

Aus der Dermatologischen Klinik
der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. O. Braun-Falco

TOLERANZERZEUGUNG UND
DESENSIBILISIERUNG BEI MEER-
SCHWEINCHEN DURCH ORALE
APPLIKATION DES ALLERGENS
1-CHLOR-2,4-DINITROBENZOL (DNCB)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael-Werner Kleine
aus Halle (Saale)

1977
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik
der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. O. Braun-Falco

TOLERANZERZEUGUNG UND
DESENSIBILISIERUNG BEI MEER-
SCHWEINCHEN DURCH ORALE
APPLIKATION DES ALLERGENS
1-CHLOR-2,4-DINITROBENZOL (DNCB)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael-Werner Kleine
aus Halle (Saale)

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. S. Marghescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der
mündlichen Prüfung: 8. 11. 1977



MANUSTRICHUNG

1. Einleitung

1.1. Einleitungstext

1.2. Ziel des Traktats

2. Hauptteil

2.1. Einleitung

2.2. Hauptteil

2.3. Schluss

2.3.1. Einleitung

2.3.2. Hauptteil

2.3.3. Schluss

2.4. Einleitung

2.4.1. Einleitungstext

2.4.2. Ziel des Traktats

2.4.3. Hauptteil

2.4.3.1. Einleitungstext

2.4.3.2. Hauptteil

2.4.4. Schluss

2.4.4.1. Einleitungstext

2.4.4.2. Hauptteil

2.4.5. Einleitung

2.4.6. Ziel des Traktats

2.4.6.1. Einleitungstext

2.4.6.2. Hauptteil

2.5. Einleitungstext (Hauptteil mit Einleitung)

2.5.1. Einleitungstext

2.5.2. Hauptteil

2.5.2.1. Einleitungstext

2.5.2.2. Hauptteil

Meinen

Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

A <u>Einleitung</u>	1
1. Geschichtlicher Überblick	1
2. Ziel der Arbeit	2
B <u>Immunbiologische Grundlagen</u>	3
1. Einführung	3
2. Allergie	3
3. Hapten	4
3.1. Reaktion	4
3.2. Sensibilisierungsmenge	5
3.3. Schicksal im Organismus	5
4. Primärkontakt	6
4.1. Rolle des lymphatischen Systems	6
4.2. Ort des Kontaktes	6
4.3. Art des Kontaktes	6
4.3.1. Informationstheorie	6
4.3.2. Klonale Selektionstheorie	7
4.4. Lymphozyten	8
4.4.1. B-Lymphozyten	9
4.4.2. T-Lymphozyten	9
4.5. Makrophagen	9
4.6. Arten der Immunantwort	10
4.6.1. Humoral	10
4.6.2. Zellulär	10
5. Sekundärkontakt (Auslösen der Reaktion)	13
5.1. Frühtypreaktionen	13
5.2. Spättypreaktion	13
5.2.1. Tuberkulintyp	13
5.2.2. Ekzemtyp	13

5.3. Latenzperiode	14
5.4. Booster-Effekt	14
5.5. An der Sekundärreaktion beteiligte Zellen	14
C <u>Histologie des Kontaktekzems</u>	15
1. Allgemeines	15
2. Das klinische Bild	15
3. Das lichtmikroskopische Bild	15
4. Das elektronenmikroskopische Bild	16
D <u>Immuntoleranz</u>	17
1. Toleranz gegen körpereigene Antigene	17
2. Erworbene Immuntoleranz	17
2.1. Definition von Toleranz und Desensibilisierung	17
2.2. Auf der klonalen Selektion beruhende Theorie	18
2.3. Suppressorzelltheorie	18
E <u>Neue Vorstellungen vom Immunvorgang</u>	19
F <u>Material und Methoden</u>	20
1. Tiere	20
2. Normalfutter	20
3. Stallhaltung	20
4. Kennzeichnung der Tiere	20
5. Epilierung	20
6. Testpflaster	20
7. Herstellung der Salben	21
8. Sensibilisierung	21
9. Testung	21
10. Sensibilisierungs-, Test- und Fütterzeiten	21

VII

11. Einteilung und Beurteilung der Reaktionen	21
12. Herstellung des DNCB-Futters	22
13. Verfütterte DNCB-Menge	22
14. DNCB	22
G <u>Vorversuche</u>	23
1. Sensibilisierung und Testung	23
1.1. Eigene Methode	23
1.2. Ziel des Vorversuches	23
1.3. Gruppeneinteilung	23
1.4. Ablesen der Primärreaktion	24
1.5. Testung	24
1.6. Ergebnisse	24
1.7. Zusammenfassung	28
2. Orale Allergengabe	28
2.1. Eigene Methode	28
2.2. Ziel des Vorversuches	28
2.3. Durchführung	29
2.4. Futtermenge	29
2.5. Gewichtskontrolle	29
3. Ergebnisse der Vorversuche	30
H <u>Hauptversuch</u>	31
1. Ziel des Hauptversuches	31
2. Erläuterungen zu den Tabellen und Kurven	31
3. Gruppe VI (Toleranzerzeugung vor der Sensibilisierung)	32
3.1. Programm	32
3.2. Ergebnisse	32
3.2.1. Tabelle	32
3.2.2. Zusammenfassung	32
3.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsver- änderungen (Grafik)	33

VIII

4. Gruppe VII (Toleranzerzeugung während der Sensibilisierung)	34
4.1. Programm	34
4.2. Ergebnisse	34
4.2.1. Tabelle	34
4.2.2. Zusammenfassung	35
4.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen (Grafik)	36
5. Gruppe VIII (Desensibilisierung)	37
5.1. Programm	37
5.2. Ergebnisse	37
5.2.1. Tabelle	37
5.2.2. Zusammenfassung	38
5.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen (Grafik)	39
6. Gruppe IX (Kontrolle)	40
6.1. Programm	40
6.2. Ergebnisse	40
6.2.1. Tabelle	40
6.2.2. Zusammenfassung	40
6.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen (Grafik)	41
7. Gruppe X (Kontrolle)	42
7.1. Programm	42
7.2. Ergebnisse	42
7.2.1. Tabelle	42
7.2.2. Zusammenfassung	42
7.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen (Grafik)	43

8. Gruppe XI (Kontrolle)	44
8.1. Programm	44
8.2. Ergebnisse	44
8.2.1. Tabelle	44
8.2.2. Zusammenfassung	44
8.3. Versuchsdurchführung und Gewichts- veränderungen (Grafik)	45
<u>I Kontrolle der Ergebnisse</u>	46
1. Beurteilung der Hautreaktionen	46
1.1. Klinische Beurteilung	46
1.2. Fotografische Dokumentation	46
1.2.1. Pflasterverband	46
1.2.2. Allergische Testreaktion	47
1.2.3. Kontrolle	48
1.2.4. Desensibilisierung	49
1.3. Histologische Beurteilung	49
1.3.1. Exzision	50
1.3.2. Normale, unbehandelte Haut	50
1.3.3. Kontrolle	51
1.3.4. Allergische Testreaktion	52
1.3.5. Desensibilisierung	53
2. Fehlerdiskussion	54
2.1. Sensibilisierungs- und Testsalbe	54
2.2. Salbengrundsubstanz und Testpflaster	54
2.3. Nebenwirkung der oralen Applikation	55
2.4. Applikationsart	55

K <u>Diskussion</u>	56
1. Eigene Ergebnisse	56
2. Interpretation der Ergebnisse	56
2.1. BURNETsche Theorie	56
2.2. Suppressorzelltheorie	57
3. Vergleich der Immuntoleranztheorien	58
3.1. Das Argument für die BURNETsche Theorie	58
3.2. Das Argument für die Suppressor- zelltheorie	58
3.3. Mit beiden Theorien zu erklärende Ergebnisse	59
3.4. Mit keiner der beiden Theorien allein zu interpretierende Ergebnisse	59
4. Schlußbetrachtung	60
5. Schlußfolgerung	62
L <u>Zusammenfassung</u>	63
M <u>Literaturverzeichnis</u>	65

A. Einleitung

1. Geschichtlicher Überblick

Das experimentelle allergische Kontaktekzem hat seit langem bei der Erforschung immunbiologischer Grundmechanismen große Bedeutung. Schon in den Anfängen der Immunforschung war es wegen seiner leichten Erzeugbarkeit ein beliebtes Forschungsobjekt.

Die ersten Versuche auf dem Gebiet der experimentellen ekzematösen Sensibilisierung machte CASH, der 1911 Menschen gegen ostindisches Atlasholz sensibilisierte (101). Aus dem gleichen Jahr stammen die Arbeiten von BLOCH über die Bedeutung der Methin- oder Methylenempfindlichkeit bei der Jodoform-Idiosynkrasie. Er zeigte als erster, wie mittels Läppchentestes mit verwandten chemischen Stoffen die für die Sensibilisierung entscheidende chemische Gruppe erkannt werden kann (101). Damit wies er den Weg zu der Erkennung der chemisch oft relativ einfachen Ekzematogene. Zu diesen zählt auch das in der Gummiindustrie verwendete Dinitrochlorbenzol (DNCB). Es wurde 1923 von WEDROFF erstmalig als kontakt-sensibilisierende Substanz erwähnt (23).

Natürlich beschäftigte die Forscher auch die Frage, ob die Sensibilisierung ein unabwendbarer oder irreversibler Vorgang sei.

1924 entdeckte der Dermatologe FREI, daß "syphilitische Personen, die sich gerade in einer Neosalvarsankur befinden", durch diesen Stoff nicht mehr sensibilisierbar waren (21,22). SULZBERGER zeigte 1929, daß eine i. v. Injektion des Allergens Arsphenamin 24 Stunden nach der Sensibilisierung die Entstehung einer Kontaktdermatitis beim Meerschweinchen verhinderte (102). 1939 beobachtete ebenfalls SULZBERGER, daß Meerschweinchen, denen zuerst Arsphenamin i.v. injiziert wurde und die man anschließend mit derselben Substanz epikutan behandelte, dadurch nicht mehr sensibilisierbar waren (19). CHASE kam 1948 nach oraler Gabe von DNCB an Meerschweinchen zu demselben Ergebnis (16,19). Nach diesen Autoren wurde das SULZBERGER-CHASE-Phänomen benannt. Darunter versteht man, daß nach oraler Gabe von DNCB eine nachträgliche Sensibilisierung auf dem üblichen kutanen Weg nicht (oder nur selten) möglich ist (98,100).

2. Ziel der Arbeit

Seit ihrer Entdeckung durch FREI, wurde immer wieder versucht, mit verschiedenen Stoffen, Tieren und Applikationsweisen Immuntoleranz zu erzeugen. Dabei wurde sehr häufig die i.v. Injektion von DNCB zur Toleranzerzeugung benutzt. Sehr viel seltener wurde der Weg der oralen Allergengabe beschritten. Auch die Methoden der Sensibilisierung waren sehr vielfältig.

In dieser Arbeit sollte deshalb in einem Versuchsprogramm sowohl Toleranzerzeugung als auch Desensibilisierung durch Verfüttern des Allergens DNCB unter standardisierten Sensibilisierungsbedingungen untersucht werden. Außerdem wurde versucht, einen kurzen Überblick über den gegenwärtigen Stand der Immunforschung zu geben. Besondere Berücksichtigung fanden dabei die verschiedenen Theorien, die es zur Erklärung der Immuntoleranz gibt.

B. Immunbiologische Grundlagen

1. Einführung

Da es zum Verständnis der Theorien, die es zum Entstehungsmechanismus von Toleranz und Desensibilisierung gibt, notwendig ist, den "normalen" Immunvorgang zu kennen, soll im folgenden Kapitel ein kurzer Überblick über die immunbiologischen Grundlagen gegeben werden.

Nach der Erklärung des Begriffes Allergie wird auf den Unterschied zwischen "Vollantigen" und "Halbantigen" (Hapten) eingegangen. Dann werden der Ort und die Art des Primärkontaktes zwischen Allergen und Immunzelle beschrieben.

Die Rolle der Lymphozyten bei der immunbiologischen Antwort wird anhand der B- und T-Lymphozyten erklärt, auf deren Bedeutung für die Entstehung der humoralen bzw. zellulären Immunität anschließend eingegangen wird.

Die Schilderung des Sekundärkontaktes zwischen Zelle und Antigen (des "Auslösens" der Reaktion) befaßt sich kurz mit den Frühtyp-, ausführlicher aber mit den Spättypreaktionen. Abschließend wird die Frage erörtert, welche Zellen an der allergischen Reaktion teilnehmen.

2. Allergie

Der Organismus befindet sich im Besitz eines Systems, das ihn befähigt, auf Stoffe, die ihm von außen zugeführt werden, mit dem Ziel zu reagieren, das fremde Material zu eliminieren, inaktivieren oder aufzulösen (52). Diese Reaktion kann den Körper aber nicht nur schützen, sondern ihn auch krankmachen. Heute unterscheidet man daher die "schutzbringenden" (phylakogenen) Immunreaktionen, die unter dem Oberbegriff der Immunität zusammengefaßt werden, von den "krankmachenden" (pathogenen), die unter der Bezeichnung Überempfindlichkeit oder Allergie (aus dem Griechischen allos = anders und ergon = Arbeit, Reaktion) zusammengefaßt werden (33,65). Der Begriff Überempfindlichkeit ist allerdings nicht unumstritten. DOERR hat sich gegen ihn gewandt, da der "überempfindliche" Organismus nicht empfindlicher, sondern "anders" empfindlich reagiert (100). Auch der Begriff Allergie hat einen Wandel durchgemacht. Er war 1906 von Clemens von PIRQUET als übergeordneter Begriff jeder spezifisch induzierten Reaktionsänderung geprägt worden. Substanzen, die solches zustande bringen, nannte er Allergene (77).

Heute werden die Begriffe Überempfindlichkeit und Allergie synonym gebraucht und im allgemeinen klinischen Sprachgebrauch auf die pathogenen Immunphänomene beschränkt (20, 100).

Prinzipiell liegen den phylakogenen wie den pathogenen Immunreaktionen die gleichen molekularen und zellulären Vorgänge zugrunde (20). Entscheidend für die Trennung in "gut" und "schlecht" sind erst die Folgen der Immunvorgänge, also das, was STEFFEN den "unspezifischen, morphologischen und/oder funktionellen Reaktions- teil" genannt hat (100).

3. Hapten

3.1. Reaktion

Nicht alle Stoffe, die von außen auf oder in den Körper gebracht werden, wirken gleich als "Vollantigen". Gewisse einfache Substanzen, wie z. B. DNCB, müssen erst an ein körpereigenes Protein gebunden werden, ehe sie antigene Eigenschaften bekommen (100). Solche Substanzen werden Halbantigene oder Haptene genannt (64). Sie sind alleine nicht fähig, eine Immunantwort auszulösen, sind also nicht immunogen. Nach fester chemischer Kupplung an ein Protein können diese Substanzen jedoch die Spezifität der Immunantwort nach ihrer Konfiguration prägen und mit den entstandenen Antikörpern oder Zellen reagieren (64, 100).

Fluoreszensoptisch wurden Penetrationsdynamik, Lokalisation und Verweildauer von oberflächlich appliziertem DNCB untersucht. Dabei zeigte es sich, daß DNCB rasch durch die Epidermis penetriert (1 min), sich sofort mit zytoplasmatischen Strukturen aller Schichten, mit Ausnahme des Stratum corneums, verbindet und einen kovalenten Hapten-Proteinkomplex bildet. Nach 6 Minuten sind die 2,4-DNP-Gruppen auch in den Follikeln und in corialen Histiozyten gebunden darstellbar (73). Dennoch muß das Antigen mindestens 16 bis 32 Stunden auf der Haut bleiben, um eine Sensibilisierung zu erreichen (Kontaktmindestzeit). Aus praktischen Gründen wird heute beim Epikutantest eine Kontaktzeit von 48 Stunden gewählt (23, 67, 95).

Ob DNCB bevorzugt mit einem bestimmten Protein reagiert, ist unklar. Die Art der Reaktion ist jedoch bekannt (45). Sie wird in Abb. 1 dargestellt.

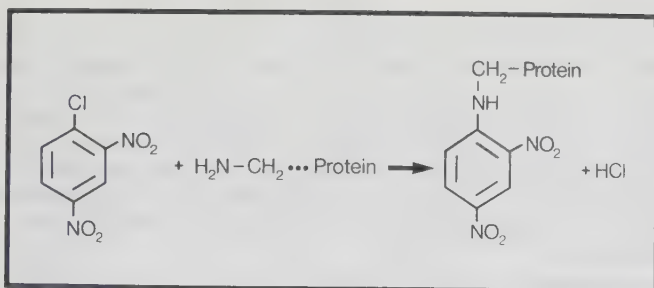


Abb. 1 Reaktion von 1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol (DNCB) mit der freien Aminogruppe eines Proteins. (Nach Kabat)

Diese Reaktion läuft hauptsächlich ab. DNCB kann aber auch mit anderen Gruppen der Proteinmoleküle reagieren, so z. B. mit Tyrosinhydroxyl, mit dem Imidazolrest von Histidin und mit der SH-Gruppe von Cystein (45).

3.2. Sensibilisierungsmenge

SCHNITZER machte 1941 die Beobachtung, daß die Sensibilisierung mit DNCB bei überschwelliger Konzentration auch nach umschriebener punktförmiger Applikation gelingt (101). SCHULZE prüft 1957 diese Versuchsergebnisse und kam zu dem Ergebnis, daß die Allergenmenge entscheidend sei, die direkt mit der Haut in Kontakt kommt (96). Der Sensibilisierungserfolg hängt also nicht von der Gesamtmenge der applizierten Substanz, sondern von der Konzentration der Verbindung pro Hautflächeneinheit ab (33).

3.3. Schicksal im Organismus

MACHER zeigte durch intradermale Injektion von C¹⁴ markiertem DNCB, daß der größte Teil des Allergens (90 % nach einer Stunde; nach 12 Stunden sogar 99 %) vom Injektionsort abströmt und mindestens zum Teil bald und unkonjugiert mit dem Urin ausgeschieden wird (60,61). Der Rest bleibt für Tage und Wochen am Injektionsort liegen. Zufluß von Hapten in die regionalen Lymphknoten wurde, abgesehen von Spuren unmittelbar nach der Injektion, nicht festgestellt (61,104).

4. Primärkontakt

4.1. Rolle des lymphatischen Systems

Bereits 1956 hatten FREY und WENK durch Versuche an vaskularisierten Hautlappen bewiesen, daß zur Entstehung der Kontaktsensibilisierung das lymphatische System intakt sein muß (23). 1962 versuchten FREY und GELEICK, Meerschweinchen durch intranodale (intralymphatische) Injektion von DNCB direkt zu sensibilisieren, was jedoch mißlang (27). Diese Befunde stützen die Theorie MEDAWARS von der "peripheren Sensibilisierung", auf die im nächsten Abschnitt eingegangen wird (60).

4.2. Ort des Kontaktes

Das Antigen reagiert beim Primärkontakt mit im Blut kreisenden, antigenresponsiven Lymphozyten (20). Diese stellen nicht die Endstufe einer Entwicklungsreihe dar, sondern eine "funktionelle Ruheform" (20). Über den Ort der Reaktion zwischen Antigen und Lymphozyt gibt es verschiedene Meinungen.

Die eine ist, daß die Reaktion sowohl bei primärer, als auch bei sekundärer Immunantwort in den Lymphknoten, der weißen Milzpulpa und den lymphatischen Strukturen, die mit dem Gastrointestinaltrakt assoziiert sind, stattfindet (20).

Die andere Möglichkeit wurde von MEDAWAR in seiner Theorie der "peripheren Sensibilisierung" formuliert. Nach ihr findet der Kontakt zwischen Antigen und Immunozyt ausschließlich in der Peripherie, also gerade außerhalb der lymphatischen Organe statt. Im Blut kreisende sensibilisierbare Lymphozyten reagieren auf ihrem "normalen Streifengang durch die Gewebe" mit dem Antigen, erhalten eine "immunologische Information" und kehren dann in die lymphatischen Organe zurück, um zu klonisieren (95). Für diese Theorie sprechen unter anderem auch autoradiographische Untersuchungen der regionalen Lymphknoten (61).

4.3. Art des Kontaktes

Auch über die Art der Reaktion zwischen Antigen und Immunzelle gibt es mehrere Theorien.

4.3.1. Informationstheorie

In dieser Theorie wurde von HAUROWITZ postuliert, daß das Antigen auf jede immunologisch reaktionsfähige Zelle wie ein Stempel oder eine Matritze einwirke und sie zur Bildung von Antikörpern mit komplementärer Konfiguration anregt (33). Diese Theorie wurde verlassen (43).

4.3.2. Klonale Selektionstheorie

Sie wird seit 1955 hauptsächlich von JERNE, MEDAWAR und BURNET vertreten und beruht auf dem DARWINSchen Selektionsprinzip (33).

Zahlreiche Versuche scheinen zu zeigen, daß immunologisch kompetente Lymphozyten an ihrer Oberfläche "Rezeptoren" besitzen (evtl. von Immunglobulincharakter), deren Aufgabe im Ansprechen auf antigene Determinanten besteht (20). Es gibt zahlreiche Hinweise darauf, daß diese "Rezeptoren", wie auch immer sie genau aussehen mögen, von vorneherein ganz antigenspezifisch angelegt sind. Jeder Lymphozyt besitzt offenbar nur eine (oder wenige) Rezeptorart(en) (94). Nach dieser Theorie gibt es gegen alle nur möglichen Antigene genetisch determinierte, spezifisch-antigenresponsive Lymphozyten mit komplementärer "Rezeptorstruktur". Ein Individuum besäße demnach schon seit seiner Geburt "antigensensible Zellen" gegen jedes erdenkliche Antigen, obwohl es mit diesen noch nie in Kontakt gekommen ist. Ein bestimmtes Antigen würde demnach nur mit dem Lymphozyten reagieren, der den "passenden Rezeptor" besäße. Diese Zelle würde dadurch selektioniert und zur Differenzierung und Proliferation in einen Zellstamm (Klon) angeregt (20, 33).

Eine schematische Darstellung der klonalen Selektion zeigt die Abb. 2.

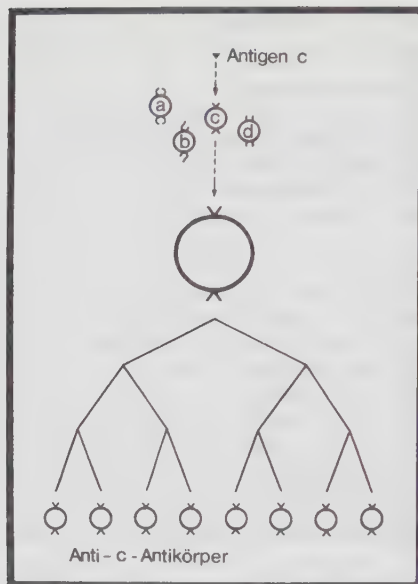


Abb. 2 Theorie der klonalen Selektion nach BURNET: Ein Antigen c trifft auf einen immunkompetenten Lymphozyten (c) mit dem "passenden" Oberflächenrezeptor. Die so selektionierte Zelle wird zur Differenzierung und Proliferation in einen Klon antikörperbildender B-Zellen oder spezifisch sensibilisierter T-Lymphozyten angeregt. (Nach Fischer und Nossal).

4.4. Lymphozyten

Trotz ihrer ähnlichen Morphologie handelt es sich bei den ca. 10^{12} Lymphozyten, die der erwachsene Organismus enthält, um eine heterogene Population mit unterschiedlichen Funktionen und Lebenszyklen. Mindestens zwei Typen immunkompetenter Lymphozyten konnten erkannt werden. Sie werden B- und T-Lymphozyten genannt (20, 33).

4.4.1. B-Lymphozyten

Die Differenzierung hämatopoetischer Stammzellen zu immunkompetenten B-Lymphozyten findet an einem Ort statt, der im menschlichen Körper noch nicht näher identifiziert ist. Man postuliert ein Gewebe, das analog der "Bursa Fabricii", eines bei Vögeln in der Nähe der Kloake gelegenen lymphoepithelialen Organs des Enddarms ("kloakaler Thymus") Bursaäquivalent genannt wird (20). Die B-Zellen (Bursaäquivalent; englisch: bone marrow derived) zirkulieren nur in geringem Umfang im Blut- und Lymphsystem (46). Sie sind für die Vermittlung der humoralen Immunität verantwortlich.

4.4.2. T-Lymphozyten

Wie man aus Defektimmunopathien schließen konnte, findet offenbar im Thymus die Differenzierung und immunologische Prägung ("Erziehung") von hämatopoetischen Stammzellen in immunkompetente (thymusabhängige) T-Lymphozyten statt. Diese besiedeln die peripheren lymphatischen Organe und beteiligen sich damit am Aufbau des lymphatischen Parenchyms der Lymphknoten, der Milz und des Darmtraktes. Sie stellen den größten Teil der zirkulierenden kleinen Lymphozyten, haben eine mehrjährige Überlebensdauer und vermitteln die zellgebundene immunologische Reaktion (20). Doch auch die T-Zellen sind offenbar keine einheitliche Gruppe. Es scheinen Subpopulationen zu existieren (107). Diese Untergruppen konnten, verschiedenen Kriterien folgend, z. B. nach ihrem Migrationsverhalten getrennt werden (38).

Auf die Rolle des Thymus bei der Entwicklung der Immuntoleranz gegenüber körpereigenen Antigenen wird später noch eingegangen.

4.5. Makrophagen

Auch die Zellen des retikulo-histiozytären Systems spielen bei der immunbiologischen Antwort auf einen Antigenreiz eine Rolle. Ihre Funktion ist aber noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Wahrscheinlich werden vor allem größere Antigenpartikel zuerst von Makrophagen aufgenommen und mit Hilfe des intrazellulären lysosomalen "Verdauungsapparates" abgebaut. Die dadurch entstehenden Abbauprodukte haben häufig eine höhere spezifische Immunwirksamkeit. Sie können wieder freigesetzt werden und die Immunzellen zur Differenzierung und Proliferation anregen (20).

4.6. Arten der Immunantwort

Dem Körper stehen zwei verschiedene Möglichkeiten der Antigenabwehr zur Verfügung: die humorale und die zelluläre Immunantwort.

Humorale Antikörper entstehen meistens nach Zufuhr löslicher Antigene, während "sensibilisierte Zellen" als Reaktion auf Antigene entstehen, die in der Gewebepерipherie, also außerhalb der immunologischen Zentrale (Milz und Lymphknoten) fixiert sind (33, 62).

4.6.1. Humoral

Bei der humoralen Immunantwort wird der spezifisch zum Antigen "passende" B-Lymphozyt angeregt, sich in größere basophile (pyrinophile) Zellen, in B-Lymphoblasten zu transformieren. Diese teilen und differenzieren sich in antikörperbildende Plasmazellen und in "Gedächtniszellen" (memory-cells), die als Proliferationspool zur Auslösung einer Sekundärantwort bereitgestellt werden. Diese Vorgänge geschehen z. B. in den Lymphknoten in den unter dem Einfluß des B-Systems stehenden äußeren Rindenabschnitten und der Markzone. Die antikörperbildenden Plasmazellen können die Lymphknoten verlassen und sich in anderen lymphatischen Organen, aber auch in nichtlymphatischen Geweben ansiedeln (20).

4.6.2. Zellulär

Bei der zellulären Immunantwort kommt es zur Stimulation der spezifisch für dieses Antigen zuständigen T-Lymphozyten, die sich in große T-Immunoblasten transformieren. Durch deren Zellteilung entstehen in der proliferativen Phase wiederum kleine lymphoide Zellen, von denen die einen als Effektorzellen (killer-cells) direkt mit dem Antigen reagieren, während die anderen bestimmte Faktoren freisetzen können, die heute Gegenstand umfangreicher Untersuchungen sind. Zu diesen Substanzen gehören unter anderem der "Makrophagen-Migrationshemmfaktor" (MIF), der "Proliferationshemmfaktor" (PIF), der "lymph node permeability factor" (LNPF) und der "chemotaktische Faktor" (39, 42, 55, 93). Es ist allerdings nicht klar, ob es sich hierbei wirklich um lauter verschiedene Stoffe handelt, oder ob ein einzelner Faktor auch mehrere Aktivitäten entfalten kann (62). Außerdem entsteht ein Pool vorwiegend zirkulierender Lymphozyten, die vermutlich als "Gedächtniszellen" anzusehen sind.

Sie können bei erneuter Antigenzufuhr eine verstärkte und beschleunigte Sekundärantwort auslösen. Die Umwandlung geschieht z. B. in den Lymphknoten in der thymusabhängigen Randzone (Parakortex) unter dem Bild einer "bunten Pulpa-hyperplasie" (76). Vermutlich sind aber nicht alle in der parakortikalen Zone auftretenden pyrinophilen Zellen (basophile Stammzellen) aus spezifisch geprägten T-Lymphozyten hervorgegangen. Die Freisetzung bestimmter Mediatoren macht auch das "Mitreagieren" von primär nicht angesprochenen lymphoiden Zellen verständlich (20).

Den für diese Differenzierungs- und Proliferationsvorgänge nötigen Zeitraum nennt man Latenzperiode. Nach ihrem Ablauf ist der Organismus sensibilisiert.

Die Abb. 3 gibt einen schematischen Überblick über die strukturellen Lymphknotenveränderungen nach Stimulation durch ein Antigen.

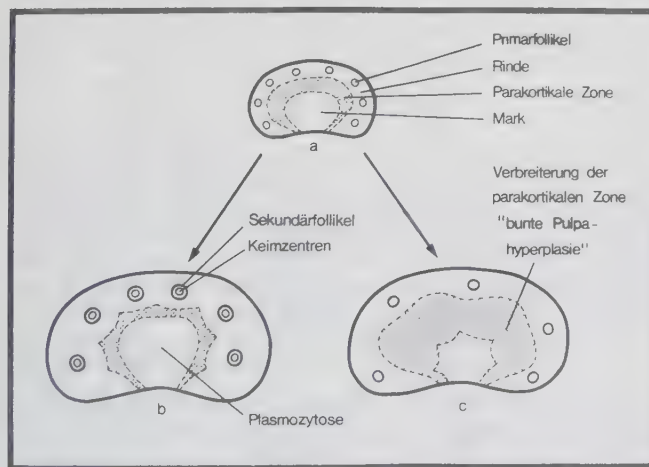
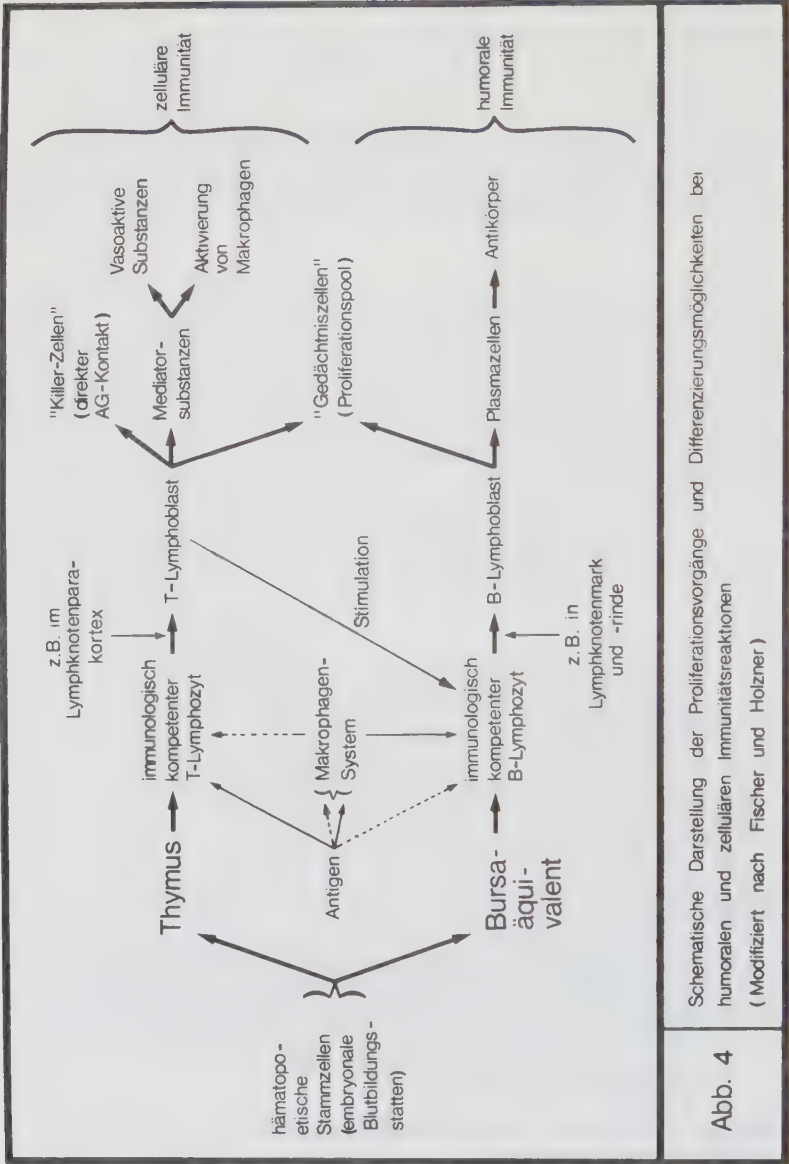


Abb. 3 Schema der strukturellen Lymphknotenveränderungen nach antigenischer Stimulation: a) inaktiver Lymphknoten; b) Lymphknoten bei vorherrschender humoraler Immunreaktion (Antikörperbildung); c) Lymphknoten im Rahmen einer vorwiegend zellulär gebundenen Immunreaktion. (Modifiziert nach Fischer).

Die Abb. 4 gibt einen schematischen Überblick über die zellulären Grundlagen der Immunantwort.



Schematische Darstellung der Proliferationsvorgänge und Differenzierungsmöglichkeiten bei humoralen und zellulären Immunitätsreaktionen
(Modifiziert nach Fischer und Holzner)

Abb. 4

5. Sekundärkontakt (Auslösen der Reaktion)

Hat der Organismus erneut mit dem Antigen Kontakt, kommt es zur Sekundärantwort. Sie kann im Vergleich zur Primärantwort schneller und mit geringeren Dosierungen ausgelöst werden (33). ZINSSER führte 1921 ein System ein, das die Hypersensitivitätsreaktionen nach der Geschwindigkeit des Reaktionsablaufes in solche vom "Frühtyp" und solche vom "Spättyp" unterteilte (109).

5.1. Frühtypreaktionen

Die Frühtypreaktionen, die schon nach Sekunden auftreten können, werden nochmals unterteilt in:

- 1) Anaphylaxie (Reagintyp); entdeckt 1902 durch PORTIER und RICHET (92, 95).
- 2) Zytotoxische Immunreaktion
- 3) Arthus- und Serumkrankheitstyp; 1903 erstmalig von ARTHUS beschrieben (1).

Alle Frühtypreaktionen werden von humoralen Antikörpern hervorgerufen. Sie gehen also auf B-Lymphozyten zurück. Auf sie wird hier nicht näher eingegangen.

5.2. Spättypreaktion

Das Phänomen des Spättyps stellt den vierten Grundtyp der Immunreaktion dar. LANDSTEINER und CHASE konnten zeigen, daß hier die humoralen Antikörper keine Rolle spielen, eine Ansicht, die heute aber nicht mehr unbestritten ist (54, 105). Schon um 1891 hatte KOCH diese Reaktionsform am Beispiel der TuberkulinÜberempfindlichkeit erkannt und beschrieben, ohne allerdings einen Grundtypus allergischer Reaktivität darin zu sehen (51). Die Spätreaktion ist zellgebunden, geht auf das T-Lymphozytensystem zurück und tritt nach 24 - 48 Stunden auf.

Aus dermatologischer Sicht wird dieser Reaktionstyp nach dem jeweiligen Schockorgan nochmals in zwei Hauptgruppen unterteilt (67).

5.2.1. Tuberkulintyp

Hier stehen Gefäßerweiterung und perivaskuläres Infiltrat in der Dermis im Vordergrund (rote Papel). Typische Krankheiten sind die Arzneimittalexantheme, das Erythema exsudativum multiforme und das Erythema nodosum.

5.2.2. Ekzemtyp

Hierbei kommt es vor allem zum intraepidermalen Bläschen (Genaueres in Abschnitt C). Typische Krankheiten sind das allergische und das photoallergische Kontaktekzem.

5.3. Latenzperiode

Die Latenzperiode ist, gemessen an der Primärreaktion, wesentlich verkürzt. Außerdem ist das Produkt der Antigen-Immunzellreaktion quantitativ erhöht. Die verkürzte Latenzzeit und die Beantwortung primär nicht toxischer Reize charakterisieren das allergische Individuum (33).

5.4. Booster-Effekt

Der Begriff Booster-Effekt (englisch: to boost = aufladen) stammt aus der Impfkunde und bedeutet, daß "nach der Grundimmunisierung eine geringe Antigenmenge genügt, um den abgesunkenen Antikörpertiter schnell zu erhöhen" (99).

In dieser Arbeit wurde er benutzt, um die verschiedenen Auslösezeitpunkte der Allergie voneinander zu unterscheiden. Der erste, am vierzehnten Tag nach der Sensibilisierung wurde als Testung bezeichnet. Hier wurde untersucht, ob die Sensibilisierung erfolgreich, das Tier also allergisch, war. Alle weiteren Kontrollen der Überempfindlichkeit wurden Booster 1, 2 bzw. 3 genannt, um auszudrücken, daß es sich um erneute Untersuchungen (Booster-Effekt = Auffrischeffekt) handelte.

5.5. An der Sekundärreaktion beteiligte Zellen

Im Falle einer Kontaktüberempfindlichkeit gegen DNCB, die ja eine Spättypreaktion darstellt, kommt es bei erneuter epikutaner Haptenzufuhr wieder zu einem kovalenten Hapten-Hautproteinkomplex. Das nun entstandene "Vollantigen" wird von "sensibilisierten" Lymphozyten erkannt und reagiert mit ihnen.

Über die Art dieser Reaktion auf zellulärer oder molekularer Ebene wissen wir wenig. Man nimmt an, daß durch den Antigenkontakt die Zellmembran der Lymphozyten so verändert wird, daß sie chemotaktische oder andere Substanzen freisetzen, die auch nichtsensibilisierte Zellen anziehen und ihnen die Möglichkeit zur Mitreaktion vermitteln (55). NAJARIAN und FELDMAN fanden durch Übertragungsversuche mit markierten sensibilisierten Zellen, daß an der Testreaktion des Empfängers nur ca. 20 % markierte, also vom Spender stammende sensibilisierte Zellen teilnahmen. Die restlichen 80 % der Zellen waren unmarkiert, stammten also vom Empfänger und waren nicht spezifisch sensibilisiert. Man folgerte daraus, daß die Spenderzellen spezielle Informationen an die Empfängerzellen abgaben (72).

Die während der Antigen-Zellreaktion freigesetzten Stoffe bewirken dann, zusammen mit Makrophagen, das Bild der Kontaktallergie mit Ödem, Erythem und Papel (67).

C. Histologie des Kontaktekzems

1. Allgemeines

Bei der Untersuchung des Kontaktekzems kann man zwischen klinischem Befund und licht- bzw. elektronenmikroskopischer Begutachtung unterscheiden. Klinisch und lichtmikroskopisch gleichen sich die Befunde von Mensch und Meerschweinchen weitestgehend. Die elektronenmikroskopischen Resultate lassen sich jedoch vom Tier nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse beim Menschen übertragen (12).

Da die elektronenmikroskopischen Untersuchungen ekzematöser Meerschweinchenhaut nicht sehr umfangreich sind, wird hier hauptsächlich auf die beim Menschen gewonnenen Ergebnisse eingegangen werden.

2. Das klinische Bild

Das klinische Bild des allergischen Kontaktekzems ist durch Rötung, Schwellung und Bläschenbildung in einem unscharf begrenzten Hautareal charakterisiert (67). Subjektiv besteht (beim Menschen) Juckreiz (66).

3. Das lichtmikroskopische Bild

Lichtmikroskopisch stellen Spongiose und spongiotische Bläschenbildung die morphologischen Charakteristika der Epidermis beim allergischen Kontaktekzem dar (48, 74, 98). Sie zeigt beim Menschen leichte Akanthose, Papillomatose und eine besonders in der unteren Schicht ausgeprägte mäßige Spongiose (12, 47). Zunächst bilden sich um die Gefäße im oberen Korium zellige Infiltrate, aus welchen einzelne Zellen den darüberliegenden subepidermalen Raum durchwandern und in die interzellulär ödematös aufgelockerte Epidermis eindringen (Exozytose) (47, 67). Diese Spongiose ist am Anfang nur umschrieben basal vorhanden, dehnt sich aber innerhalb von 1 - 3 Tagen aus und kann sich dann zu einem (spongiotischen) Bläschen umbilden (6). Ein Teil der Zellen in den Ekzem-infiltraten, in den Spongioseherden und den spongiotischen intraepidermalen Bläschen sind peroxidase-positive Monozyten bzw. kleine Lymphozyten und histiozytäre Makrophagen (5, 12, 98).

Auch beim Meerschweinchen zeigt die Epidermis leichte Hyperkeratose, herdwweise Parakeratose, Akanthose und ein geringes inter- und intrazelluläres Ödem (68).

4. Das elektronenmikroskopische Bild

Bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung menschlicher Haut finden sich die auffälligsten Veränderungen im Interzellularraum. Dieser ist erheblich erweitert, wobei es zu einem Verschwinden der desmosomalen Kontakte ("Mikroakantholyse") kommt. Die intrazellulären Veränderungen bestehen in einer Verminderung des Tonofilamentsystems, sowie in einer Anreicherung von Glykogen und Lipoiden (sog. irregular dense bodies) als Zeichen einer initialen Stoffwechselstörung. Ein intrazytoplasmatisches Ödem beschränkt sich, ebenso wie degenerative Veränderungen, auf einzelne Zellen. Die spongiotische Erweiterung des Interzellularraumes endet knapp oberhalb der Basalmembran, welche leicht verdickt und zum Teil auch wolkig aufgelockert ist. Sie löst sich überall dort auf, wo die Entzündungszellen mit ihr in Kontakt kommen (12, 69).

D. Immuntoleranz

1. Toleranz gegen körpereigene Antigene

Immuntoleranz ist ein Phänomen, das in jedem normalen Organismus vorkommt. Der Körper erkennt seine Gewebe, die ja vollständig aus antigenen Substanzen (Proteinen, Lipiden usw.) aufgebaut sind, als "eigene" und setzt keine Immunreaktion gegen sie in Gang (52). Der Weg, auf dem es zu dieser Toleranz kommt, ist noch nicht völlig aufgeklärt. Die heute vertretene Auffassung basiert auf der klonalen Selektionstheorie von BURNET (64). Es wird postuliert, daß die aus hämatopoetischen Stammzellen entstehenden Lymphozyten während der Induktion ihrer immunologischen Kompetenz auf eine potentielle Responsivität gegenüber körpereigenen Antigenen "getestet" werden. Autoreaktive Zellen würden nach dieser Vorstellung eliminiert. In ähnlicher Weise müßten auch die im Knochenmark oder in den bursaäquivalenten Organen auftretenden Immunzellen gegen körpereigene Antigene beseitigt werden. Im späteren Leben gäbe es also gar keine gegen das eigene Gewebe gerichteten Immunzellen mehr. Dem Thymus als zentralem Immunitätsorgan kommt dabei möglicherweise eine Schlüsselstellung zu. Die Immuntoleranz gegenüber eigenem Gewebe erwirbt der Organismus in der Regel während der Embryonalzeit (20).

Eine andere Theorie zur Entstehung dieser Toleranzform wird im Kapitel E geschildert.

2. Erworbene Immuntoleranz

Neben der Toleranz gegen körpereigene Antigene gibt es auch erworbene Immuntoleranz. Appliziert man ein körperfremdes Antigen während der Perinatalperiode in einen Organismus, so erwirbt dieser Toleranz gegen das Antigen.

Die in den Versuchen dieser Arbeit untersuchte Toleranz wurde in einem viel späteren Lebensabschnitt erzeugt, zu dem das Immunsystem bereits voll ausgebildet war (75).

2.1. Definition von Toleranz und Desensibilisierung

Seitdem FREI, SULZBERGER und CHASE die Existenz und experimentelle Erzeugbarkeit von Toleranz (Nichtreagieren des Organismus auf ein Antigen) und Desensibilisierung (Toleranzerzeugung in einem bereits sensibilisierten Organismus) beschrieben, wurde dieses Phänomen immer wieder untersucht (u. a. 18, 41, 78). Doch die mit differierenden Methoden, verschiedenen Allergenen und unterschiedlichen Versuchstieren gewonnenen Befunde gleichen Mosaiksteinchen, die noch nicht zu einem Bild zusammengesetzt werden konnten.

Es gibt heute zwei Theorien zur Erklärung der Immuntoleranz, die sich auf den ersten Blick zu widersprechen scheinen.

2.2. Auf der klonalen Selektion beruhende Theorie

Nach der klonalen Selektionstheorie gibt es im normalen Organismus Zellen (Lymphozyten), die genetisch so geprägt sind, daß sie mit einem speziellen Antigen reagieren können. Für jedes Antigen steht also nur eine begrenzte Anzahl sensibilisierbarer Zellen zur Verfügung.

BURNET selber formulierte 1959 eine Hypothese, nach der es zur selektiven Zerstörung von antigensensiblen Klonen kommen kann (15). Er meinte, damit alle Formen der Toleranz erklären zu können. Seine Hypothese hatte den Vorteil, eine relativ einfache Erklärung des Phänomens Immuntoleranz zu geben und beeinflusste die Immunologen dieser Zeit sehr (71).

BRETSCHER und COHN entwickelten diese Theorie weiter. Sie postulierten, daß der Kontakt von haptensensiblen Zellen mit dem Hapten-Protein-Konjugat (dem "Vollantigen") zur Überempfindlichkeit, mit dem Hapten allein jedoch zur Toleranz führt (13). Kommt das Hapten also direkt mit den spezifischen Lymphozyten in Kontakt, so resultiert entweder Zerstörung oder irreversible Bindung des Haptens an die Zelle, ohne daß es zur Immunantwort kommt (34, 36).

2.3. Suppressorzelltheorie

Ein großer Teil der neuen Forschungsergebnisse ließ sich mit der BURNETschen Hypothese jedoch nicht in Einklang bringen. Auf der Suche nach einer vollständigen Erklärung kam es zur Entwicklung der Theorie von den Suppressorzellen (4, 8, 37, 52, 70, 71, 80, 82, 83, 85, 86, 87, 88, 89, 103, 107).

Spezifisch geprägte Suppressor T-Zellen wirken direkt auf die Effektor T-Zellen ein und unterbinden eine Immunantwort. Diese Theorie geht also davon aus, daß Immuntoleranz ein aktiver Vorgang (Aktivierung von Suppressorzellen) ist und kein passiver (Zerstörung der spezifischen Zellen), wie BURNET meinte (90).

Auf den Vergleich dieser Theorien, auf die Frage, ob Toleranz und Desensibilisierung gleiche Mechanismen zugrunde liegen und auf die Interpretation eigener Ergebnisse wird noch in der Diskussion eingegangen werden.

E. Neue Vorstellungen vom Immunvorgang

Basierend auf der Suppressorzelltheorie haben sich mittlerweile auch die Vorstellungen vom "normalen" Immunvorgang geändert. Die neuen Überlegungen über dessen Ablauf sehen folgendermaßen aus.

Die strenge Trennung in zwei völlig unabhängig voneinander arbeitende Abwehrsysteme (B- und T-Zellen) wird aufgegeben (94). Statt dessen kommt den T-Zellen die Rolle eines Regulators sowohl der B- als auch der T-Antwort zu (46, 103). Diese "regulierenden T-Zellen" sollen aus zwei Subpopulationen bestehen, von denen die eine die Immunantwort anregt (Helferzellen), während die andere sie hemmt (Suppressorzellen) (4, 8, 107).

Wie es zu dieser Regulation kommt, ist trotz großer Bemühungen noch nicht näher erforscht (46). Es könnte sich um eine direkte Stimulation der regulierenden Zellen durch das Antigen handeln (107). Auf jeden Fall scheinen feedback-Signale der Effektorzellen von Wichtigkeit zu sein (38).

Der Wirkungsmechanismus der Suppressorzellen ist ebenfalls noch unklar. Möglich wäre ein direkter Zell-Zell-Kontakt (71). Auch das Freisetzen eines "Faktors" wäre denkbar.

Die Immuntoleranz gegenüber körpereigenen Antigenen kann man auch unter einem neuen Aspekt betrachten. Während der Embryonalzeit und der Perinatalperiode werden gegen körpereigene Antigene spezifisch sensibilisierte Zellen bzw. Antikörper gebildet. Gleichzeitig kommt es aber auch zur Entwicklung spezifischer Suppressorzellen, die eine Aktion der Zellen und Antikörper gegen die eigenen Antigene verhindern. Durch einen Defekt dieses Systems könnte in einem späteren Lebensabschnitt irgendwann die Suppressoraktivität nachlassen, und die Antigen-Antikörperreaktion käme in Gang. Das würde die Entstehung der Autoimmunkrankheiten verständlich machen.

Das Bestechende an der Suppressorzelltheorie und den sich aus ihr ableitbaren Konsequenzen ist die Tatsache, daß eine Verbindung zwischen B- und T-System hergestellt wird. Es ist nur schwer vorstellbar, daß sich der Organismus zwei völlig unabhängig voneinander arbeitende Immunsysteme "leisten" soll. Wenn das eine auf das andere System einwirken bzw. mit ihm zusammenarbeiten könnte, so wäre das die biologisch sinnvollere Arbeitsweise.

Auch wenn viele Argumente für diese Theorie sprechen, so ist sie doch noch nicht in allen Einzelheiten bewiesen.

F. Material und Methoden

1. Tiere

Als Versuchstiere dienten weibliche Albino-Meerschweinchen des Inzuchtstammes Pirbright. Zu Versuchsbeginn war das Gewicht der Tiere ca. 300 g. Das Immunsystem war zu diesem Zeitpunkt voll entwickelt (75).

2. Normalfutter

Verfüttert wurden Altromin Trockennahrung für Meerschweinchen und Wasser ad libitum.

3. Stallhaltung

Die Meerschweinchen wurden in Gruppen zwischen 10 und 15 Tieren in Käfigen der Größe 75 x 100 cm gehalten.

4. Kennzeichnung der Tiere

Auf das rechte Ohr der Tiere wurde mit einem Dermatographen die fortlaufende Versuchsnummer geschrieben. Irgendeine Reaktion auf die Farbsubstanz des Schreibers wurde nicht festgestellt.

5. Epilierung

Die Tiere wurden mit einer Schermaschine der Marke "Aesculap Elektro" (Scherkopf 1/20 mm) epiliert. Um optimalen Kontakt zwischen Allergen und Haut herzustellen, wurden noch verbleibende Haarstummel mit einem Rasierapparat der Marke "Braun Sixtant" entfernt. Bei der Epilierung wurde sorgfältig darauf geachtet, Verletzungen oder mechanische Reizungen der Haut zu vermeiden.

6. Testpflaster

Zum Auftragen des Allergens auf die Haut der Tiere diente ein handelsübliches Allergie-Testpflaster (Al-test, imeco ab, Södertälje, Schweden). Es besteht aus einer Alu-Folie, auf deren Mitte sich ein Papierfleck vom Durchmesser 1 cm befindet. Die Testfläche hat also eine Größe von ca. 0,8 cm². Diese Testpflaster sind nach Angabe des Herstellers frei von sensibilisierenden Stoffen, was in den Versuchen auch bestätigt wurde. Das mit Salbe versehene Pflaster wurde mittels Zirkulärverbandes aus gut hautverträglichem "Leukosilk", der nochmals durch einen Zirkulärverband aus "Leukoplast" gesichert wurde, straff und verschiebefest auf der Meerschweinchenhaut fixiert (50).

7. Herstellung der Salben

Verschiedene DNCB-Mengen wurden in Olivenöl aufgelöst und anschließend in Eucerinum anhydricum eingearbeitet. Dadurch entstanden Salben mit genau festgelegter DNCB-Konzentration. Sie wurden in verschleißbaren Plastikriegeln bei Raumtemperatur aufbewahrt. Um immer gleich viel Salbe auf das Testpflaster auftragen zu können, wurde sie zu diesem Zweck in eine 1 ml Einmal-Tuberkulinspritze (Asik, I/S, Dänemark) gegeben, mit der sich die verwendete Menge sehr exakt dosieren ließ.

8. Sensibilisierung

Die linke Flanke eines Tieres wurde epiliert und zwecks Entfettung mit Azeton abgerieben. Danach wurden 0,08 ml einer 0,5 % DNCB-Eucerinum anhydricum-Salbe mittels Testpflaster aufgetragen. Das entspricht 4×10^{-4} g DNCB.

9. Testung

Die rechte Flanke eines Tieres wurde epiliert und mit Azeton abgerieben. Danach wurden 0,08 ml einer 0,1 % DNCB-Salbe mittels Testpflaster aufgetragen. Das entspricht 8×10^{-5} g DNCB.

10. Sensibilisierungs-, Test- und Fütterzeiten

Das Pflaster wurde nach 48 Stunden entfernt. Das Ablesen der Reaktion erfolgte 24 Stunden später (7). DNCB wurde nach einer dreitägigen Hungerperiode 16 Tage lang verfüttert.

11. Einteilung und Beurteilung der Reaktion

Um die Begutachtung der allergischen Reaktionen zu objektivieren, wurde das Verfahren der "Blindbeurteilung" verwendet. Alle Versuchstiere wurden in eine Kiste gesetzt und in zufälliger Reihenfolge von drei Personen beurteilt. Erst danach wurde festgestellt, zu welcher Gruppe das Tier gehörte.

Eine auch bei den Kontrolltieren nach Abnahme der Pflaster feststellbare leichte Schuppung wurde nicht berücksichtigt, da sie zweifelsohne auf den 48-stündigen occlusiven Salbenverband zurückzuführen war. Die auch in den Tabellen verwendete Einteilung der Hautreaktionen war folgende:

schwaches Erythem (zart rosa):	+
Erythem (rosa) :	++
starkes Erythem (dunkelrot):	+++
Infiltrat (Verhärtung):	•

12. Herstellung des DNCB-Futters

Es wurde eine 1 % DNCB-Lösung in 90 % Äthanol hergestellt. 8 ml dieser Lösung wurden langsam und unter ständigem Rühren (Magnet-rührer) zu 75 g normalem Meerschweinchenfutter Altromin gegeben. Dadurch wurde das Futter zwar gut durchfeuchtet, aber nicht aufgelöst. Anschließend wurde die Nahrung bei 30° C wieder getrocknet.

100 g des "DNCB-Futters" enthalten 0,11 g DNCB.

13. Verfütterte DNCB-Menge

Ausgehend von einer Futteraufnahme von ca. 35 g pro Tier und Tag ergibt sich in 16 Tagen eine Gesamtmenge von ca. 560 g Futter.

Jedes Tier hat also ca. 0,6 g DNCB oral aufgenommen.

14. DNCB

Verwendet wurde 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol ($C_6H_3ClN_2O_4$) der Firma Merck. Artikel Nr. 2427.

Charge Nr. 4171563

Mol.-Gew. 202,55; Schmelzpunkt 50 - 52° C;

Gehalt (aus N) mindestens 99 %

Die Strukturformel von DNCB zeigt Abb. 5

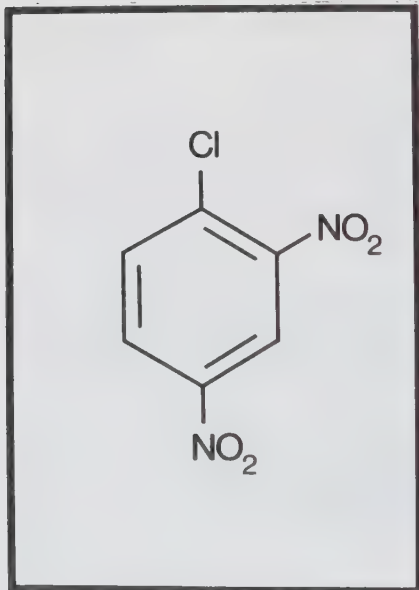


Abb. 5 Strukturformel von
1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB).

G. Vorversuche

1. Sensibilisierung und Testung

Die in der Literatur am häufigsten beschriebenen Verfahren zur epikutanen Sensibilisierung und Testung sind das Aufpinseln einer DNCB-Lösung in Alkohol oder Azeton (11, 25, 44, 56, 58, 63, 108). Diese Methode ist unter Umständen relativ ungenau, da sich mit ihr nicht gewährleisten läßt, daß Überall auf dem Testareal die gleiche DNCB-Konzentration herrscht. Auch die Dauer der Antigenexposition ist nicht genau bestimmbar. Dadurch wird die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und der Versuch, sie mit anderen Arbeiten zu vergleichen, außerordentlich erschwert.

1.1. Eigene Methode

Um während des ganzen Versuches wirklich gleiche Bedingungen zu haben, wurde die von BURG und BRAUN-FALCO entwickelte Methode verwendet, das Allergen in Salbenform zu applizieren. Aus herstellungstechnischen Gründen wurde das Verfahren aber noch etwas verändert. Statt das DNCB direkt in Eucerinum anhydricum zu geben, wurde es erst in Olivenöl gelöst. Dann wurde diese Lösung in die Grundsubstanz eingearbeitet. Mit Hilfe der so entstandenen Salbe ist es möglich, genau abgemessene Allergenmengen zu applizieren, die Expositionszeit sicher zu bestimmen und eine absolut gleichmäßige Konzentration auf der Tierhaut zu gewährleisten.

1.2. Ziel des Vorversuches

Wie oben schon erwähnt, sind die in der Literatur angegebenen, zum Sensibilisieren und Testen nötigen DNCB-Konzentrationen alle auf Alkohol- oder Azetonlösungen bezogen (24, 26, 40). Daher war es notwendig, im Rahmen eines Vorversuches die Sensibilisierungs- und Testkonzentrationen für die "Salbenmethode" zu bestimmen.

1.3. Gruppeneinteilung

Es wurden 5 Gruppen zu je 10 Tieren gebildet. Die Meerschweinchen der Gruppe I bekamen auf die rasierte linke Flanke 1 % Salbe, die der Gruppe II 0,5 % Salbe, die der Gruppe III 0,1 % Salbe und die der Gruppe IV 0,05 % Salbe. Die Gruppe V diente als Kontrolle und erhielt nur reines Eucerinum anhydricum. Jedes Tier bekam jeweils 0,08 ml Salbe auf das Testpflaster. Diese Menge ließ sich gut auf dem Papierfleck des Pflasters verteilen und bedeckte ihn ganz.

1.4. Ablesen der Primärreaktion

48 Stunden später wurde das Pflaster entfernt. Nach weiteren 24 Stunden erfolgte das Ablesen der Reaktion. Dadurch konnte festgestellt werden, ob die jeweilige Salbenkonzentration toxisch war. Eine, kurze Zeit nach der Abnahme des Verbandes sichtbare, Pflasterreaktion hat sich im Verlauf des Versuches als weder allergisch noch toxisch, sondern als rein mechanisches Reflexerythem herausgestellt (10, 50). Es war deutlich von der allergenbedingten Reaktion zu unterscheiden, verschwand nach einigen Stunden und hatte keinen Einfluß auf die Ablesbarkeit des Epikutantestes.

Die Beurteilung der Reaktionen geschah nach folgenden Kriterien: Ein leichtes Erythem (zart rosa) erhielt +, ein gut sichtbares Erythem (rosa) erhielt ++, ein starkes Erythem (rot bis dunkelrot) erhielt +++.

Das eigentliche Merkmal einer Sensibilisierung, das bei einer Testung entstehende epidermale Ödem, kann von "außen" als knötchenartige Verhärtung palpiert werden. Da die Natur dieser Verhärtung nur mikroskopisch exakt bestimmt werden kann, wurde sie allgemein als Infiltrat bezeichnet. Sie erhielt das Zeichen ●.

Es zeigte sich, daß die 1 % Salbe starke toxische Reaktionen, die nach einigen Tagen zur Nekrose führten, hervorrief. Die 0,5 % Salbe bewirkte bei einem Teil der Tiere eine Primärreaktion, die 0,1 % und die 0,05 % Salbe hingegen nicht. Die Kontrollsalbe hatte, abgesehen von einer leichten Schuppung auf sonst ungereizter Haut, keinen Effekt.

1.5. Testung

Am 14. Tag nach Abnahme des Pflasters erfolgte die Testung. Dazu wurde die rechte Meerschweinchenflanke epiliert, mit Azeton abgerieben und mit 3 Testpflastern beklebt. Auf den Pflastern war jeweils 0,5 %, 0,1 % und 0,05 % Salbe. Die Pflaster wurden 48 Stunden später entfernt und die Reaktion 24 Stunden später abgelesen.

1.6. Ergebnisse

Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen sind in den Tabellen 1 - 5 aufgeführt. Die Darstellung erfolgte in tabellarischer Form. Verwendet wurden die unter G/1.4. aufgeführten und erläuterten Zeichen.

Tab. 1 zeigt die Ergebnisse der Gruppe I

Nr.	0,5 %	0,1 %	0,05 %
1	• + + +	• + + +	∅
2	• + + +	• + + +	∅
3	• + + +	• + + +	+
4	• + + +	• + + +	∅
5	• + + +	• + + +	∅
6	• + + +	• + + +	+
7	• + + +	• + +	∅
8	• + + +	• + + +	+
9	• + + +	• + + +	+
10	• + + +	• + + +	∅

Tab. 1 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, die mit 1 % DNCB-Salbe sensibilisiert und mit 0,5 %, 0,1 % und 0,05 % DNCB-Salbe getestet wurden.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;

++ = Erythem; +++ = starkes Erythem;

• = palpables Infiltrat; † = Tier gestorben

Tab. 2 zeigt die Ergebnisse der Gruppe II.
(Legende siehe Seite 26).

Nr.	0,5 %	0,1 %	0,05 %
11	• + + +	• + + +	+
12	• + + +	• + + +	∅
13	†	†	†
14	†	†	†
15	• + + +	• + + +	∅
16	• + + +	• + + +	∅
17	• + + +	• + + +	+
18	• + + +	• + + +	∅
19	• + + +	• + +	∅
20	• + + +	• + + +	+

Tab. 2 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, die mit 0,5 % DNCB-Salbe sensibilisiert und mit 0,5 %, 0,1 % und mit 0,05 % DNCB-Salbe getestet wurden.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
 ++ = Erythem; +++ = starkes Erythem;
 ● = palpables Infiltrat; ☒ = Tier gestorben

Tab. 3 zeigt die Ergebnisse der Gruppe III

Nr.	0,5%	0,1%	0,05%
21	• + + +	+ +	∅
22	• + + +	■ + + +	∅
23	• + + +	• + +	∅
24	• + +	+ + +	∅
25	+ +	+	∅
26	+ + +	+ +	∅
27	• + + +	• + + +	+
28	+ + +	+ + +	∅
29	• + +	+ +	+
30	• + + +	• + + +	∅

Tab. 3 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, die mit 0,1 % DNCB-Salbe sensibilisiert und mit 0,5 %, 0,1 % und mit 0,05 % DNCB-Salbe getestet wurden.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
 ++ = Erythem; +++ = starkes Erythem;
 ● = palpables Infiltrat; ☒ = Tier gestorben

Tab. 4 zeigt die Ergebnisse der Gruppe IV

Nr.	0,5 %	0,1 %	0,05 %
31	+ + +	+ +	∅
32	+ + +	+ +	∅
33	+ +	+ +	∅
34	• + + +	+ + +	∅
35	+ +	+	∅
36	+ +	+ +	∅
37	+ +	+	∅
38	+ + +	+ +	∅
39	• + + +	+ + +	∅
40	+ +	+	∅

Tab. 4 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, die mit 0,05 % DNCB-Salbe sensibilisiert und mit 0,5 %, 0,1 % und mit 0,05 % DNCB-Salbe getestet wurden.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
 ++ = Erythem; +++ = starkes Erythem;
 • = palpables Infiltrat; † = Tier gestorben

Tab. 5 zeigt die Ergebnisse der Gruppe V
 (Legende siehe Seite 28).

Nr.	0,5 %	0,1 %	0,05 %
41	+ +	∅	∅
42	+ +	+	∅
43	+	∅	∅
44	+	∅	∅
45	+ +	∅	∅
46	+	∅	∅
47	+ +	∅	∅
48	+	∅	∅
49	+ +	∅	∅
50	+	∅	∅

Tab. 5 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, die mit reinem Eucerinum anhydricum "sensibilisiert", und mit 0,5 %, 0,1 % und mit 0,05 % DNCB-Salbe getestet wurden.

Ø = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;

++ = Erythem;

1.7. Zusammenfassung

Die Sensibilisierungskonzentration von 1 % ist zu toxisch. 0,1 % und 0,05 % zeigen zwar keine toxische, aber auch keine genügend große allergisierende Wirkung.

Als richtige Sensibilisierungskonzentration erwies sich 0,5 %. Die jeweils verwendeten 0,08 ml entsprechen 4×10^{-4} g DNCB.

Als richtige Testkonzentration erwies sich 0,1 %. Verwendet wurden jeweils 0,08 ml, das entspricht 8×10^{-5} g DNCB.

2. Orale Allergengabe

Die i.v. Injektion von DNCB bzw. von DNBSO₃, dem immunologisch verwandten und kreuzreagierenden 2,4-Dinitrobenzol-sulfon-sauren Natriumsalz, das weniger toxisch ist, wird sehr häufig als Methode zur Toleranzerzeugung beschrieben (28, 29, 30, 34, 36).

Auch die orale Gabe des Allergens wurde versucht (59, 91). DNCB wurde z. B. in Olivenöl gelöst und den Tieren mittels Magenschlauch gegeben (97).

2.1. Eigene Methode

In den hier beschriebenen Versuchen wurde ein anderer Weg beschritten, indem das Allergen dem Futter beigemischt wurde. Das Herstellungsverfahren ist unter F/12 beschrieben.

2.2. Ziel des Vorversuches

Da DNCB relativ toxisch ist und die Tiere das Futter ja freiwillig fressen sollten, kam es darauf an, das Futter mit der höchsten DNCB-Konzentration zu finden, welches von den Tieren noch vertragen wurde.

2.3. Durchführung

Es wurde mit der unter F/12 beschriebenen Methode Futter mit verschiedenen DNCB-Konzentrationen hergestellt und zwar mit 0,55 %, mit 0,33 % und mit 0,11 % DNCB. Nach dem Verfüttern zeigte es sich, daß die Tiere, die das 0,55 % oder das 0,33 % Futter bekommen hatten, dieses nur in minimalen Mengen fraßen und - auch als sie wieder normales Futter erhielten - dieses nicht mehr ausreichend aufnahmen und eingingen.

Das 0,11 % Futter wurde nach einer Gewöhnungsphase sowohl gut gefressen, als auch gut vertragen. Dabei erwies es sich als zweckmäßig, die Tiere bei der Umstellung von Normal- auf DNCB-Futter 3 Tage hungern zu lassen.

2.4. Futtermenge

Durch Kontrolle der verbrauchten Futtermenge ergab sich, daß die Tiere pro Tag und Stück zwischen 30 und 40 g fraßen. Bei der Berechnung der Gesamtmenge wurde daher von einem Mittelwert von 35 g Futter pro Tier und Tag ausgegangen.

Das ergibt einen Gesamtverbrauch von ca. 560 g in 16 Tagen und somit eine oral aufgenommene Menge von ca. 0,6 g DNCB pro Tier während des Versuches.

2.5. Gewichtskontrolle

Alle Tiere des Vorversuches wurden laufend gewogen. Das Gewicht ist die einfachste Kontrollmöglichkeit, um festzustellen, ob die Tiere fressen. Durch Beobachtungen an normal gefütterten Tieren konnte eine Art "Sollwert" bestimmt werden, der später mit dem bei DNCB-gefütterten Tieren erhaltenen Wert verglichen wurde. Dabei zeigte sich, daß nach der Umstellungsphase in der Gewichtszunahme von normal und DNCB-gefütterten Tieren kein Unterschied feststellbar war.

Die Gewichtsabnahme während der Zeit des Sensibilisierens bzw. Testens oder "Boosterns" wurde auf den Pflasterverband zurückgeführt, der sehr straff angelegt werden mußte, um ein Abstreifen oder Verschieben zu verhindern. Er behinderte die Tiere stark. (Abb. 12 zeigt ein Meerschweinchen mit Pflasterverband.) Der Gewichtsverlust wurde aber nach Abnahme des Verbandes sehr schnell wieder ausgeglichen.

3. Ergebnisse der Vorversuche

Die Sensibilisierung erfolgt mit 0,08 ml einer 0,5 % Salbe.

Das entspricht 4×10^{-4} g DNCB.

Die Testung erfolgt mit 0,08 ml einer 0,1 % Salbe.

Das entspricht 8×10^{-5} g DNCB.

Um Toleranz bzw. Desensibilisierung zu erreichen, wurden die Tiere 16 Tage lang mit 0,11 % DNCB-Futter gefüttert.

Das entspricht einer Gesamtmenge von 0,6 g oral aufgenommenem DNCB.

H. Hauptversuch

1. Ziel des Hauptversuches

Im Hauptversuch soll die toleranzerzeugende bzw. desensibilisierende Wirkung der oralen Applikation des Allergens DNCB untersucht werden.

Es gab drei verschiedene Zeitpunkte, zu denen DNCB verfüttert werden konnte: vor, während und nach der Sensibilisierung.

Dementsprechend erfolgte die Gruppeneinteilung. Jede Gruppe bestand aus 10 Tieren. Außerdem wurden noch drei Kontrollgruppen gebildet.

Die eine, um die Wirksamkeit der Sensibilisierungs- und Testsalbe während des ganzen Versuches zu überwachen.

Die anderen beiden, um die Wirkung der oralen Applikation auf einen nicht sensibilisierten Organismus zu prüfen.

2. Erläuterungen zu den Tabellen und Kurven

Die Ergebnisse der Testung und der Booster-Effekte wurden - wie in den Vorversuchen - in tabellarischer Form dargestellt.

Während der gesamten Versuchsdauer wurden alle Tiere täglich gewogen. Das Ergebnis dieser Wiegen ist in den Abb. 6 - 11 dargestellt.

Auf der Abszisse der Kurven ist die Gesamtversuchsdauer in Tagen angegeben. Darunter stehen die einzelnen Versuchsschritte, die an dem jeweiligen Tag gemacht wurden.

Auf der Ordinate ist der Mittelwert des Gesamtgewichts aller Tiere der jeweiligen Gruppe in Gramm aufgetragen.

3. Gruppe VI (Hungern, Füttern, Sensibilisieren, Testen, Booster 1 und 2)

3.1. Programm

Den Tieren wurde nach 3 Hungertagen 16 Tage lang DNCB-Futter gegeben. Daran anschließend wurden sie sensibilisiert und getestet. Außerdem wurde zweimal versucht, eine Boosterreaktion auszulösen.

Bei dieser Gruppe starb kein Tier.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Tabelle

Nr.	Testung	Booster 1	Booster 2
51	∅	• + +	• +
52	∅	∅	∅
53	∅	• + +	• + +
54	∅	∅	∅
55	∅	∅	∅
56	∅	∅	∅
57	∅	∅	∅
58	∅	∅	∅
59	∅	∅	∅
60	∅	∅	∅

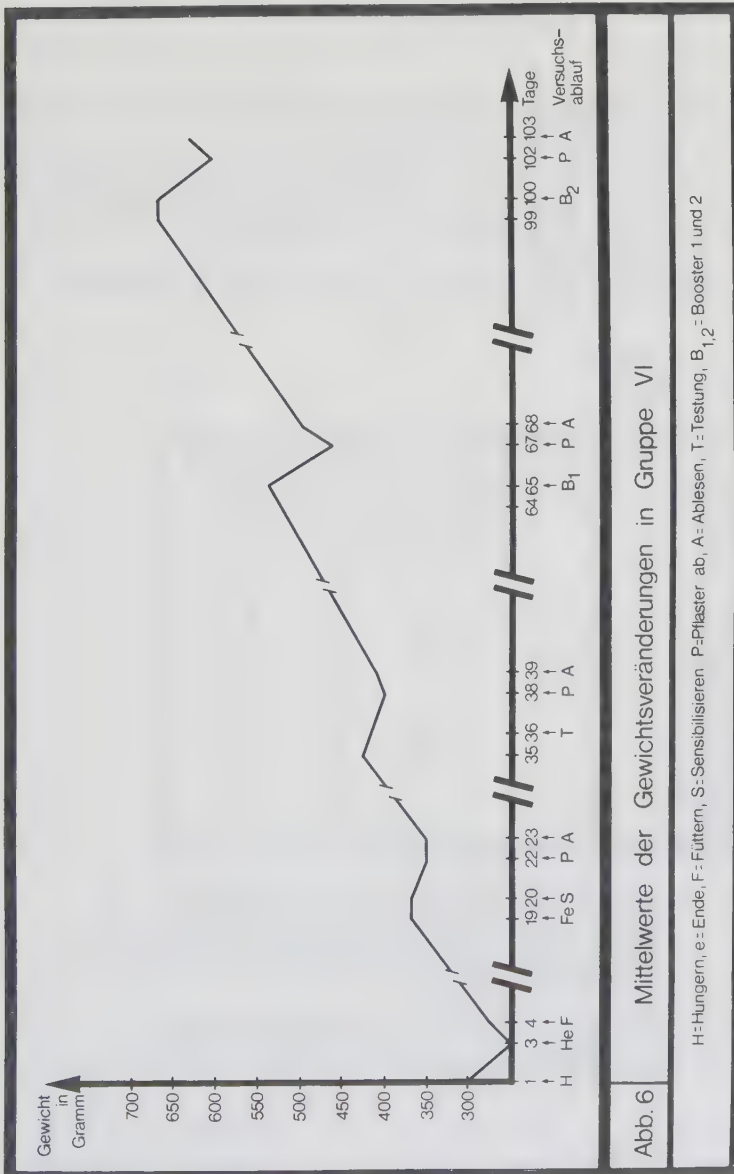
Tab. 6 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, bei denen die Erzeugung von Toleranz durch DNCB-Füttern vor der Sensibilisierung versucht wurde.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
 ++ = Erythem, • = palpables Infiltrat;

3.2.2. Zusammenfassung

Bei der Testung zeigten alle Tiere Toleranz, die auch durch wiederholtes Boostern nach 64 und 99 Tagen nur bei 2 Tieren (20 %) gebrochen werden konnte.

3.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen in Gruppe VI



Mittelwerte der Gewichtsveränderungen in Gruppe VI

H: Hungern, e: Ende, F: Füttern, S: Sensibilisieren, P: Pflaster ab, A: Ablesen, T: Testung, B_{1,2}: Booster 1 und 2

4. Gruppe VII (Hungern, Sensibilisieren/Füttern, Testen, Booster 1 und 2)

4.1. Programm

Der zweite mögliche Zeitpunkt der oralen Allergengabe ist während der Sensibilisierungsphase.

Die Tiere bekamen nach 3 Hungertagen gleichzeitig mit dem Sensibilisierungspflaster 16 Tage lang DNCB-Futter. Anschließend wurde die Reaktion getestet und zweimal versucht, einen Booster-Effekt auszulösen.

Während des Fütterns starb ein Tier, nach dem Testen ein zweites und nach Booster 1 zwei weitere.

4.2. Ergebnisse

4.2.1. Tabelle

Nr.	Testung	Booster 1	Booster 2
61	∅	†	†
62	∅	• + +	• +
63	∅	• + +	• +
64	∅	∅	∅
65	∅	∅	∅
66	∅	∅	†
67	†	†	†
68	∅	∅	∅
69	∅	• +	†
70	∅	• + +	• + +

Tab. 7 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, bei denen die Erzeugung von Toleranz durch DNCB-Füttern während der Sensibilisierung versucht wurde.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
 ++ = Erythem; • = palpables Infiltrat;
 † = Tier gestorben

4.2.2. Zusammenfassung

Nach der Testung zeigte sich, daß die Sensibilisierung bei keinem Tier Erfolg gehabt hatte.

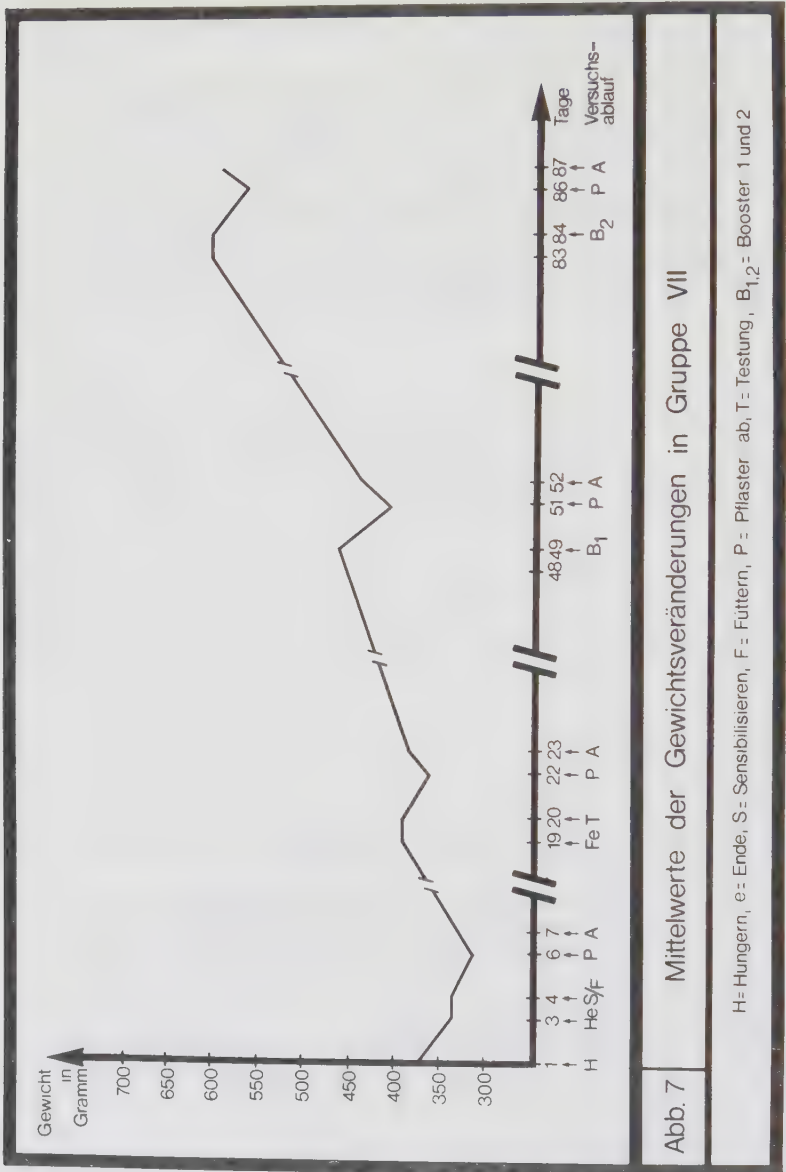
Alle waren tolerant. Die erste "Boosterung" ließ nach 49 Tagen erkennen, daß noch 4 von 8 Tieren (50 %) Toleranz zeigten.

Booster 2 bestätigte nach 84 Tagen, daß noch 3 von 6 Tieren reaktionslos waren.

Dieses Ergebnis ist aber wegen der hohen Zahl gestorbener Tiere (4 von 10) nicht mehr eindeutig interpretierbar.

Warum ausgerechnet in dieser Gruppe so viele Tiere verenden, war nicht ersichtlich.

4.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen in Gruppe VII



5. Gruppe VIII (Sensibilisieren, Testen, Hungern, Füttern, Booster 1, 2 und 3)

5.1. Programm

Die Tiere wurden sensibilisiert und getestet. Nach 3 Hungertagen erhielten sie 16 Tage lang DNCB-Futter. Im weiteren Verlauf wurde dreimal versucht, eine Boosterreaktion auszulösen.

Während des DNCB-Fütterns starben zwei Tiere, nach Booster 1 ein weiteres.

5.2. Ergebnisse

5.2.1. Tabelle

Nr.	Testung	Booster 1	Booster 2	Booster 3
71	• + + +	+ +	• + +	■ + +
72	• + + +	• +	• + +	• +
73	• + + +	∅	• +	• + +
74	• + + +	∅	• + +	• + +
75	• + + +	∅	• + +	• + +
76	• + + +	‡	‡	‡
77	• + + +	‡	‡	‡
78	• + + +	+ +	• + +	• +
79	• + + +	∅	∅	∅
80	• + + +	∅	‡	‡

Tab. 8 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, bei denen die Desensibilisierung durch DNCB-Füttern nach der Sensibilisierung und Testung versucht wurde.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
 ++ = Erythem; +++ = starkes Erythem;
 • = palpables Infiltrat; ‡ = Tier gestorben

5.2.2. Zusammenfassung

Durch die Testung wurde die erfolgreiche Sensibilisierung aller Tiere festgestellt.

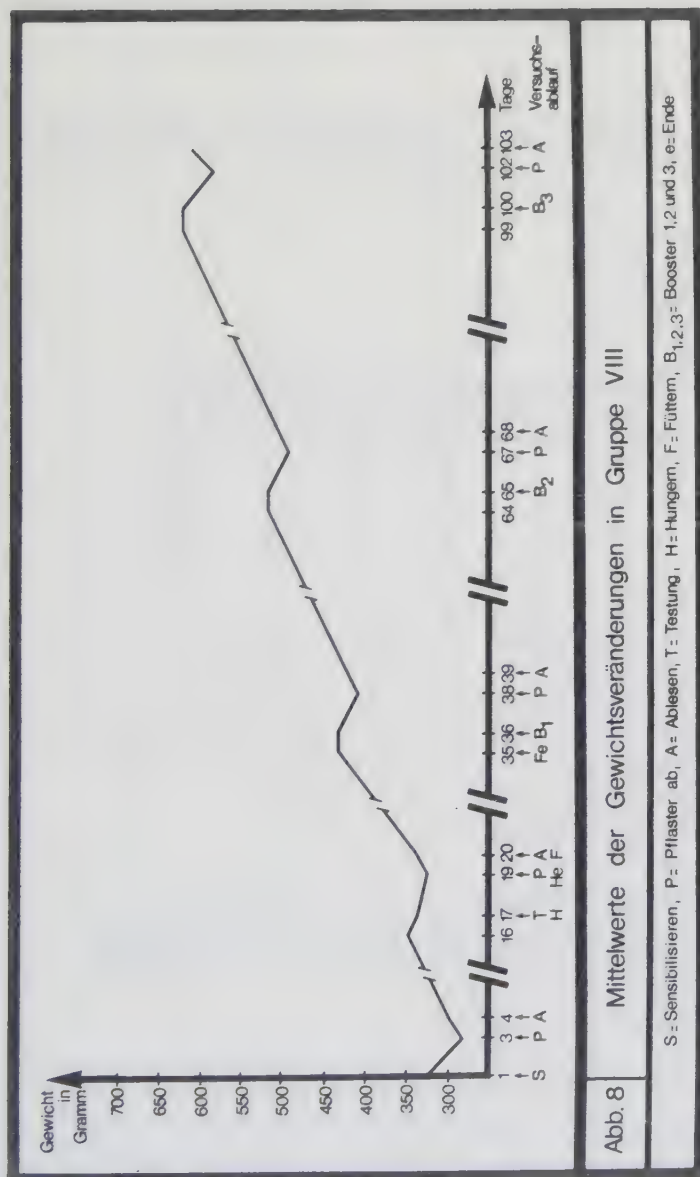
Booster 1 zeigte nach 36 Tagen, daß 5 von 8 Tieren (62,5 %) sicher und zwei weitere Tiere (25 %) sehr wahrscheinlich desensibilisiert werden konnten.

Bei beiden Tieren wurde zwar ein Erythem gesehen, aber es war kein Infiltrat palpabel, das ja das Hauptkriterium der allergischen Reaktion darstellt.

Booster 2 zeigte, daß nach 64 Tagen bei 6 von 7 Tieren (85,7 %) die Desensibilisierung durchbrochen werden konnte.

Booster 3 bestätigte nach weiteren 32 Tagen dieses Ergebnis.

5.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen in Gruppe VIII



6. Gruppe IX (Hungern, Füttern, Kontrolle, Testen,
Booster 1 und 2)

6.1. Programm

Die Versuchsbedingungen dieser Gruppe entsprechen denen der Gruppe VI. Die Sensibilisierung, Testung und Booster 1 und 2 geschahen jedoch nicht mit DNCB-Salbe, sondern mit Eucerinum anhydricum.

Bereits vor der Testung starb ein Tier.

6.2. Ergebnisse

6.2.1. Tabelle

Nr.	Testung	Booster 1	Booster 2
81	∅	∅	∅
82	∅	∅	∅
83	∅	∅	∅
84	⊕	⊕	⊕
85	∅	∅	∅

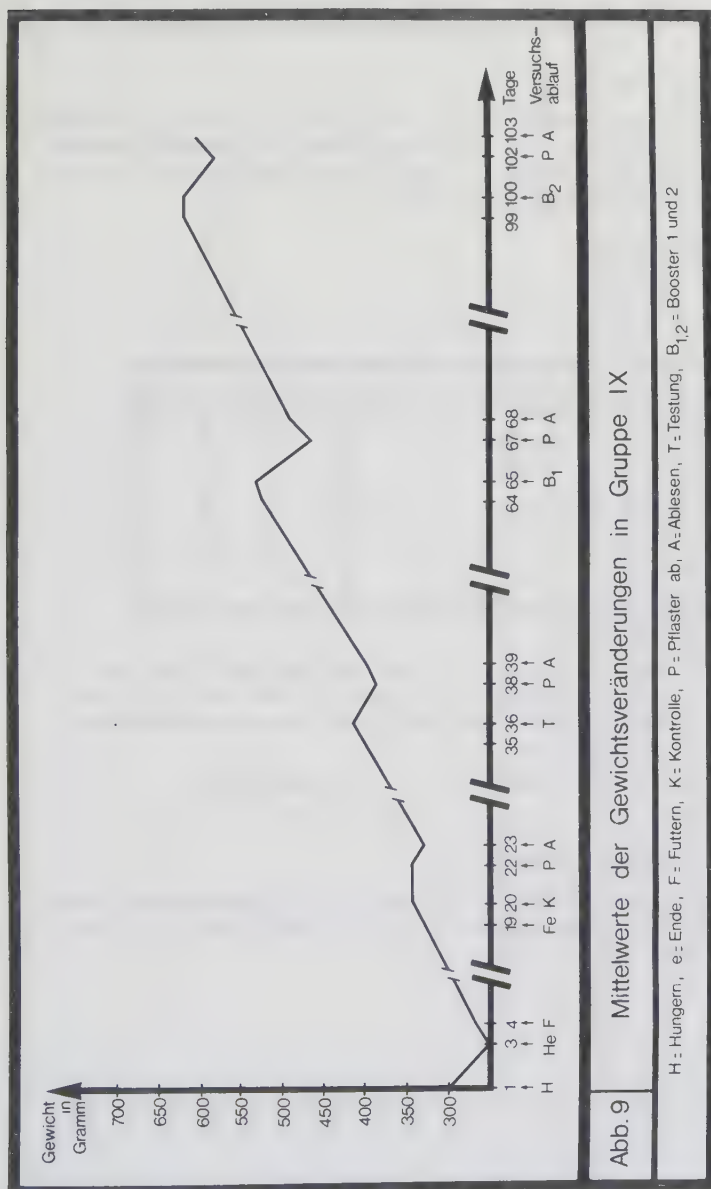
Tab. 9 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 5 Meerschweinchen, die zwar mit DNCB gefüttert wurden, epikutan aber nur reines Eucerinum anhydricum erhielten.

∅ = keine Reaktion; ⊕ = Tier gestorben

6.2.2. Zusammenfassung

Bis auf eine Schuppung, die auf den occlusiven Salbenverband zurückzuführen ist (siehe F/11), zeigte kein Tier eine Reaktion.

6.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen in Gruppe IX



7. Gruppe X (Kontrolle, Testen, Hungern, Füttern,
Booster 1, 2 und 3)

7.1. Programm

Die Versuchsbedingungen sind die gleichen wie die der Gruppe VIII. Die Tiere der Gruppe X erhielten jedoch beim Sensibilisieren, Testen und bei Booster 1, 2 und 3 keine DNCB-Salben, sondern Eucerinum anhydricum aufgetragen.

7.2. Ergebnisse

7.2.1. Tabelle

Nr.	Testung	Booster 1	Booster 2	Booster 3
86	∅	∅	∅	∅
87	∅	∅	∅	∅
88	∅	∅	∅	∅
89	∅	⊕	⊕	⊕
90	∅	⊕	⊕	⊕

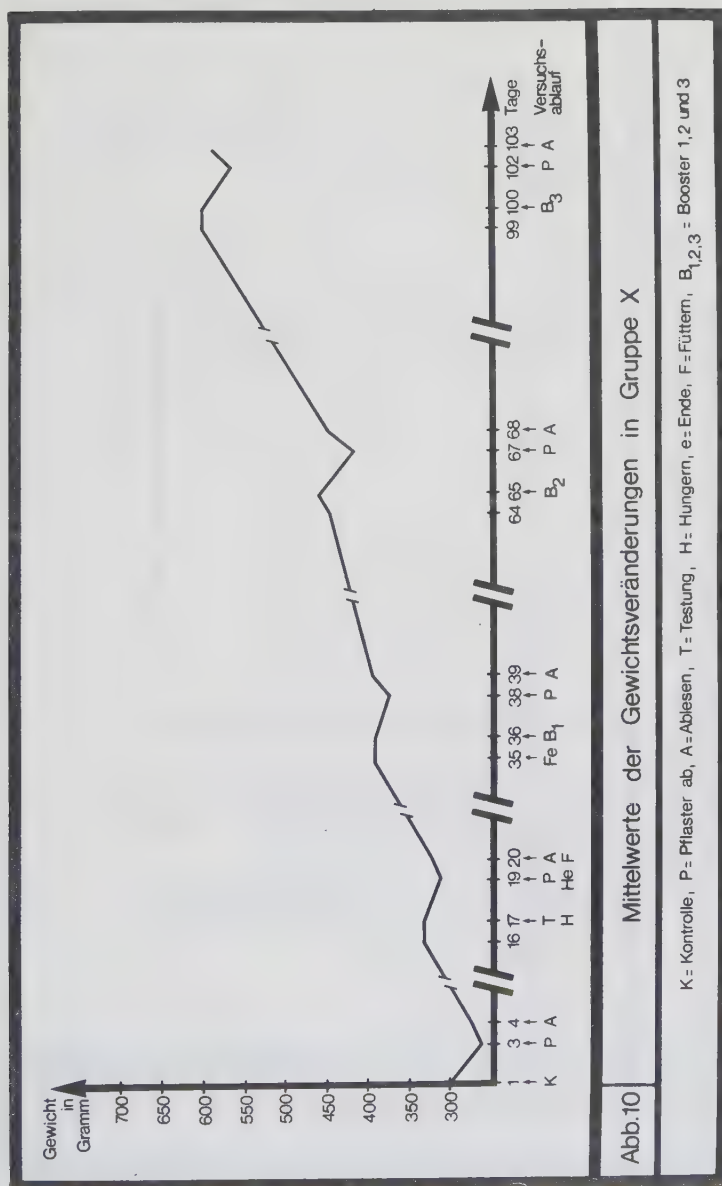
Tab. 10 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 5 Meerschweinchen, die zwar mit DNCB gefüttert wurden, epikutan aber nur reines Eucerinum anhydricum erhielten.

∅ = keine Reaktion; ⊕ = Tier gestorben

7.2.2. Zusammenfassung

Bis auf eine leichte, auf den occlusiven Salbenverband zurückführbare Schuppung (siehe auch F/11) zeigte kein Tier eine Reaktion.

7.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen in Gruppe X



8. Gruppe XI (Sensibilisieren, Testen, Booster 1 und 2)

8.1. Programm

Die Tiere wurden sensibilisiert und getestet.

Anschließend wurde zweimal versucht, eine Booster-Reaktion auszulösen. Die Tiere erhielten normales Meerschweinchenfutter.

Während des Versuches starb kein Tier.

8.2. Ergebnisse

8.2.1. Tabelle

Nr.	Testung	Booster 1	Booster 2
91	• + + +	• + +	• + + +
92	• + + +	• + + +	+ +
93	• + +	+ +	• + + +
94	• + + +	• + + +	• + + +
95	• + +	• + + +	• + +
96	• + +	• + +	• + + +
97	• + + +	• + + +	• + +
98	• + + +	• + + +	• + + +
99	• + + +	• + + +	• + + +
100	• + + +	• + + +	• + + +

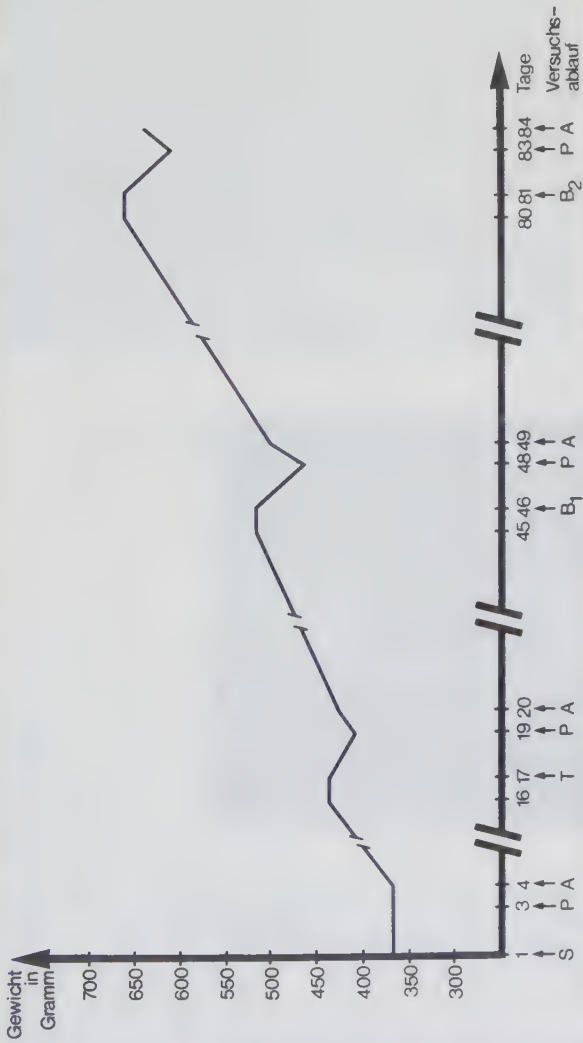
Tab. 11 Tabellarische Darstellung der Hautreaktionen von 10 Meerschweinchen, die sensibilisiert, getestet und zweimal "geboostert", nicht aber mit DNCB gefüttert wurden.

∅ = keine Reaktion; + = leichtes Erythem;
++ = Erythem; +++ = starkes Erythem;
• = palpables Infiltrat;

8.2.2. Zusammenfassung

Zum Zeitpunkt der Testung waren alle Tiere allergisch. Bei den beiden Boosterreaktionen zeigte jeweils eines von 10 Tieren keine Reaktion (Erklärung siehe I/2.1).

8.3. Versuchsdurchführung und Gewichtsveränderungen in Gruppe XI



Mittelwerte der Gewichtsveränderungen in Gruppe XI

Abb.11

S = Sensibilisieren, P = Pflaster ab, A = Ablesen, T = Testung, B_{1,2} = Booster 1 und 2

I. Kontrolle der Ergebnisse

1. Beurteilung der Hautreaktionen

Um kontaktallergische Hautreaktionen zu begutachten, gibt es zwei Möglichkeiten, die klinische und die histologische.

1.1. Klinische Beurteilung

Sie richtet sich nach den durch die Antigen-Zellreaktion in der Haut bewirkten Veränderungen:

Ödem, Erythem und Papel (67). Diese Art der Beurteilung ist aber subjektiv, was gerade in Zweifelsfällen kritisch ist.

1.2. Fotografische Dokumentation

Die folgenden Fotografien zeigen, wie sich die Reaktionen klinisch darstellten.

1.2.1. Pflasterverband

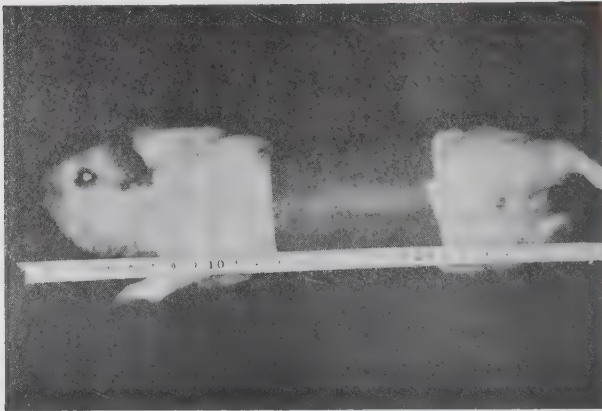


Abb. 12 Meerschweinchen mit zirkulär angelegtem Pflasterverband, wie er zur Fixierung des Testpflasters bei der Sensibilisierung und Testung diente.

1.2.2. Allergische Testreaktion

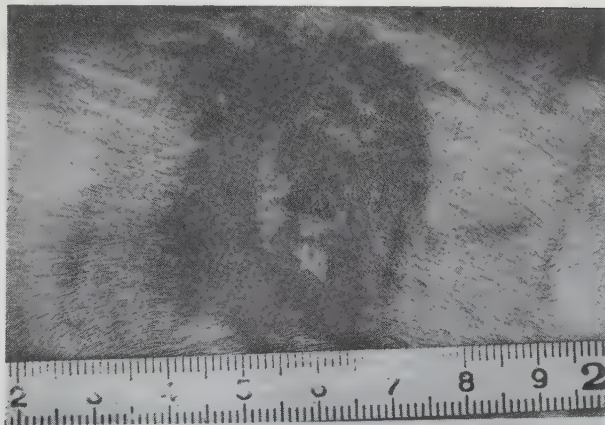


Abb. 13 Allergische Testreaktion auf der epilierten rechten Flanke eines Meerschweinchens.
Der unscharf begrenzte "Fleck" in der Mitte ist das Ödem.

1.2.3. Kontrolle

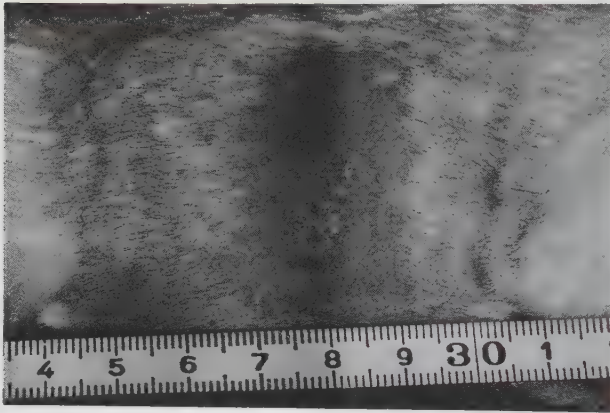


Abb. 14 Mit Eucerinum anhydricum behandeltes Testgebiet (epilierte, rechte Flanke eines Meerschweinchens). Die leichte Schuppung wurde, wie unter F/11 erklärt, auf den 48-stündigen occlusiven Salbenverband zurückgeführt.

1.2.4. Desensibilisierung

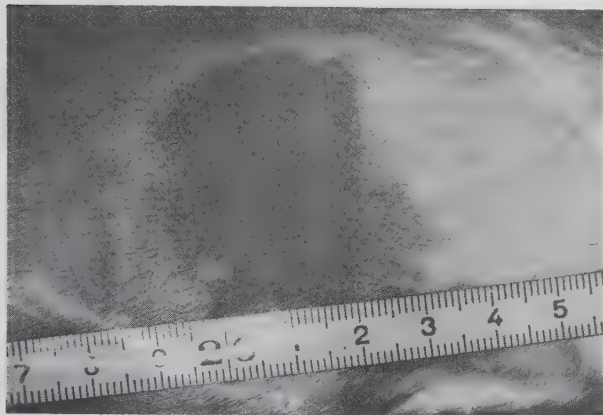


Abb. 15 Epilierte, rechte Flanke eines Meerschweinchens der Gruppe VIII. Das Tier wurde desensibilisiert. Bis auf eine leichte Schuppung ist keine Reaktion zu sehen. Klinisch sahen die Tiere der Gruppen VI und VII, die mit $\emptyset$ bewertet wurden, genauso aus.

1.3. Histologische Beurteilung

Auch wenn durch die "Blindbeurteilung" (siehe F/11) versucht wurde, Subjektivität weitestgehend auszuschließen, ist doch noch eine andere Kontrolle der Ergebnisse nötig.

Das Anfertigen histologischer Schnitte und deren mikroskopische Auswertung ermöglichen es, die Vorgänge in der Epidermis zu beurteilen.

1.3.1. Exzision

Die Tiere wurden mit medizinischem Äther betäubt und das Hautstück unter sterilen Kautelen exzidiert.

Anschließend wurde die Wunde durch eine Knopfnahnt verschlossen und mit einem Pflasterverband versorgt.

Obwohl keine Medikamente gegeben wurden, kam es zu keiner sichtbaren Infektion der Wunden. Alle Tiere überlebten die Operation und blieben im Versuchsprogramm.

1.3.2. Normale, unbehandelte Haut

Um einen Vergleich zu ermöglichen, wurde auch ein Schnitt durch normale, unbehandelte Meerschweinchenhaut, wie ihn Abb. 16 zeigt, angefertigt.

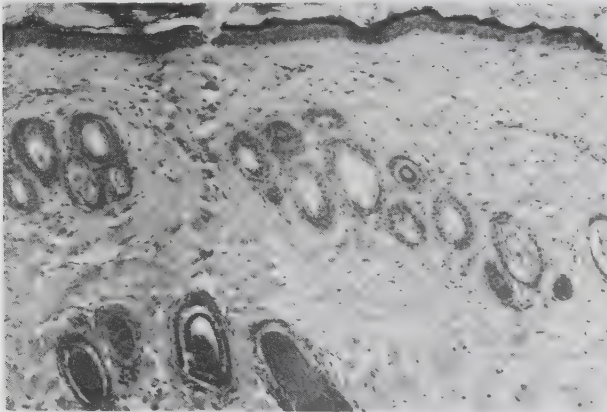


Abb. 16 Histologisches Bild normaler Meerschweinchenhaut
(Vergrößerung: 32-fach; Färbung: HE)

1.3.3. Kontrolle

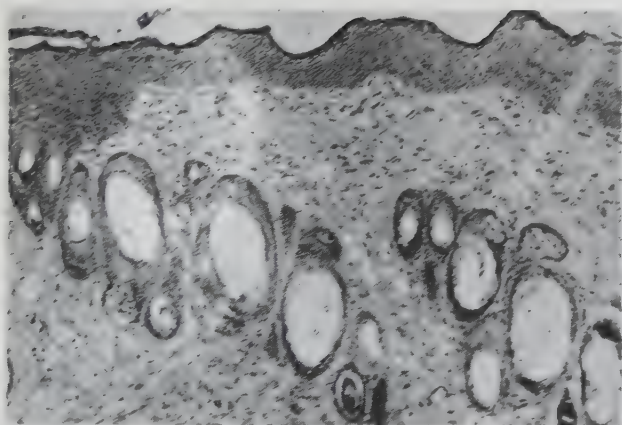


Abb. 17 Histologisches Bild einer mit Eucerinum anhydricum behandelten Meerschweinchenhaut
(Vergrößerung: 32-fach; Färbung: HE)

Die in der Abb. 17 gezeigte Haut (von Tier Nr. 83, Gruppe IX) wurde nur mit Eucerinum anhydricum behandelt. Durch die Salbe kam es zur Acanthose.
Sonst ist keine Reaktion feststellbar.

1.3.4. Allergische Testreaktion

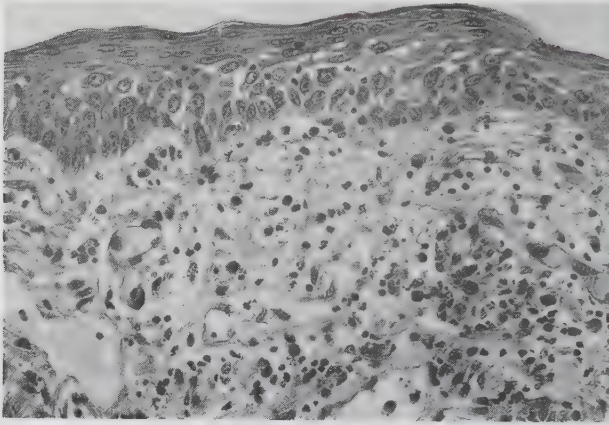


Abb. 18 Histologisches Bild einer kontaktallergisch reagierenden Meerschweinchenhaut
(Vergrößerung: 80-fach; Färbung: HE)

Die in der Abb. 18 gezeigte Epidermis ist ödematös aufgelockert, was zur Bildung spongiotischer Mikrobläschen führt. Im ebenfalls ödematös aufgelockerten oberen Korium sind die Gefäße erweitert. Ein perivaskuläres Infiltrat (Rundzellen) zeigt eine deutliche Tendenz zur Exozytose.

1.3.5. Desensibilisierung

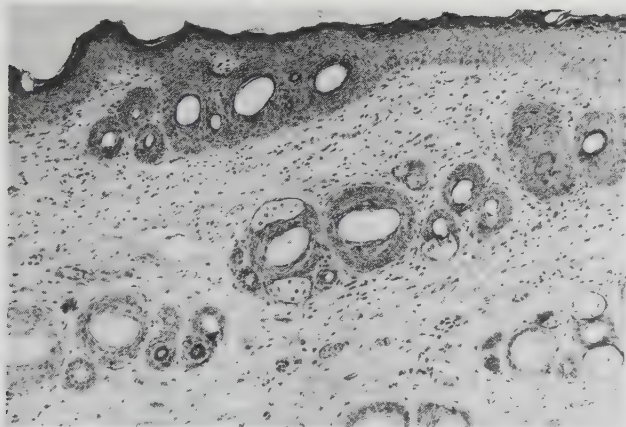


Abb. 19 Histologisches Bild einer Meerschweinchenhaut, die trotz epikutaner Allergenexposition nicht allergisch reagierte. Das Tier war also desensibilisiert.
(Vergrößerung: 32-fach; Färbung: HE)

Die Haut dieses Tieres (Nr. 73, Gruppe VIII) zeigt bei Booster 1 außer einer leichten Akanthose, wie sie auch bei den Kontrolltieren festzustellen ist, keine Reaktion. Das Meerschweinchen war also desensibilisiert.

Die bei den Tieren der Gruppe VI und VII gewonnenen histologischen Befunde gleichen diesem.

Durch diese histologischen Kontrollen wurde die Richtigkeit der klinischen Begutachtung bestätigt.

2. Fehlerdiskussion

2.1. Sensibilisierungs- und Testsalbe

Um die allgemeinen Versuchsbedingungen während der ganzen Experimente laufend zu überwachen, wurden drei Kontrollgruppen gebildet.

Zum einen galt es zu beweisen, daß die im Vorversuch gefundenen Sensibilisierungs- und Testkonzentrationen wirklich die richtigen sind, zum anderen, daß die verwendeten Salben ihre Wirksamkeit während des Versuches nicht ändern.

Dazu diente die Gruppe XI. Durch ihre Tiere wurde gezeigt, daß die Sensibilisierung und anschließende Testung der allergischen Reaktion sowohl beim ersten Mal (Testung), als auch bei weiteren Versuchen (Booster 1 und 2) erfolgreich war.

Für die "Versager" während der Boosterreaktionen gibt es mehrere Erklärungen.

- 1) Es kann sich um eine so schwache allergische Reaktion gehandelt haben, daß das Infiltrat nicht palpabel war.
- 2) Die Angaben in der Literatur über die besten Sensibilisierungserfolge mit nichttoxischen Konzentrationen schwanken zwischen 97 % und 100 % (24, 27, 40). Innerhalb dieser Grenzen liegt auch die Sensibilisierungsrate der eigenen Versuche.

Damit ist sowohl die Richtigkeit der Methode allgemein, als auch die der Sensibilisierungs- und Testkonzentrationen, ebenso wie die Haltbarkeit der Salben während der Versuchsdauer erwiesen.

2.2. Salbengrundsubstanz und Testpflaster

Eine weitere Fehlermöglichkeit des Versuchsaufbaues wäre eine hautschädigende Wirkung der verwendeten Testpflaster oder der Salbengrundsubstanz Eucerinum anhydricum gewesen. Um das ausschließen zu können, wurden die Gruppen IX und X gebildet, deren Tiere nur Eucerinum anhydricum-Verbände erhielten.

Außer Akanthose und leichter Schuppung auf sonst reizloser Haut (siehe F/11 und Abb. 14 und Abb. 17) zeigte sich keine Reaktion.

Die Salbe war also - ebenso wie das Testpflaster - reizstofffrei.

2.3. Nebenwirkung der oralen DNCB-Applikation

Die Tiere der Gruppen IX und X erhielten aber auch DNCB-Futter, wobei der Zeitpunkt des Fütterns variiert wurde. Gruppe IX erhielt das DNCB-Futter vor und Gruppe X nach der "Sensibilisierung" mit reinem Eucerinum anhydricum. Dadurch konnte untersucht werden, ob das oral aufgenommene DNCB außer Toleranzerzeugung bzw. Desensibilisierung irgendeinen anderen Einfluß auf die Tiere hat.

Für einen solchen Einfluß ergaben sich keine Hinweise.

In der Literatur wird ein Verfahren beschrieben, mit welchem die Sensibilisierung durch Applikation von DNCB auf die Wangenschleimhaut gelang ("buccale Sensibilisierung") (58). Um auszuschießen, daß die Verfütterung des Allergens zu einer Sensibilisierung geführt hat, wurden die Primärreaktionen nach Abnahme des Sensibilisierungspflasters bei einigen Tieren der Gruppe VI (Füttern, Sensibilisieren, Testen) histologisch untersucht. Die Reaktionen waren rein toxischer, nicht aber allergischer Natur (6, 68, 69).

Eine buccale Sensibilisierung erscheint somit ausgeschlossen.

2.4. Applikationsart

Ein Unsicherheitsfaktor lag in der Applikationsart des DNCB im Futter. Diese Methode hat gegenüber anderen den Vorteil, für die Tiere so wenig belastend wie möglich zu sein. Durch Lösungsmittel, wie Öl, bedingte intestinale Nebenwirkungen wurden vermieden (97).

Es war jedoch nicht genau zu überprüfen, wieviel Futter von jedem einzelnen Tier gefressen wurde. Durch laufendes Wiegen wurde zwar kontrolliert und bestätigt, daß jedes Tier DNCB-Futter aufnahm, der angegebene Wert von 0,6 g DNCB pro Tier in 16 Tagen stellt aber zweifelsohne nur einen Mittelwert dar.

K. Diskussion

Im Zusammenhang mit den geschilderten Versuchsergebnissen stellten sich vor allem drei Fragen.

- 1) Wie können die erzielten Ergebnisse im Lichte der heute meistdiskutierten Theorien (BURNETsche und Suppressorzelltheorie) erklärt werden?
- 2) Welche Fakten sprechen für die BURNETsche Theorie, die davon ausgeht, daß spezifisch sensibilisierte Zellen durch im Blut befindliches Hapten zerstört oder inaktiviert werden können? Welche Argumente unterstützen die Suppressorzelltheorie, die darauf basiert, daß es auch im toleranten Organismus sensibilisierte Zellen gibt, diese aber durch spezifische andere Zellen an der Reaktion mit dem Antigen gehindert werden?
- 3) Sind Toleranz und Desensibilisierung gleich- oder verschiedenartige Reaktionen des Organismus?

1. Eigene Ergebnisse

Eine vor der Sensibilisierung erzeugte Toleranz (Gruppe VI) war vollständig und auch nach längerer Zeit (99 Tage) und wiederholten Versuchen (Booster 1 und 2) nur in geringem Ausmaß (bei 2 von 10 Tieren) zu durchbrechen.

Eine während der Sensibilisierungsphase erzeugte Toleranz (Gruppe VII) war zwar zunächst vollständig, doch nach 49 Tagen (Booster 1) schon wieder zu 50 % gebrochen. Nach weiteren 32 Tagen bestätigte Booster 2 dieses Ergebnis.

Noch "schlechter" verlief der Versuch der Desensibilisierung (Gruppe VIII). Zwar gelang sie zum Zeitpunkt des ersten Booster-Effektes bei 62,5 % der Tiere sicher und bei 25 % fast sicher (= 87,5 %), doch schon 26 Tage später (Booster 2) war das Ergebnis umgekehrt. 6 von 7 Tieren (85,7 %) reagierten wieder allergisch. Booster 3 brachte das gleiche Resultat.

2. Interpretation der Ergebnisse

Wie können die erhaltenen Befunde interpretiert werden?

2.1. BURNETsche Theorie

Es gibt die Möglichkeit, sie mit der Theorie von BURNET, die von BRETSCHER und COHN weiterentwickelt wurde, zu erklären (13, 71, 107).

Diese Theorie geht davon aus, daß durch systemisches Hapten die möglichen antigensensiblen Zellen zerstört bzw. inaktiviert werden können. Beim erneuten epikutanen Allergenkontakt gibt es dann keine Zellen mehr, die mit dem Antigen reagieren können (siehe auch D/2.2.).

Daß Toleranz, die durch DNCB-Füttern vor der Sensibilisierung erzeugt wurde (Gruppe VI), am vollständigsten und längstdauernden war, ließe sich damit gut erklären. Das oral aufgenommene, intestinal resorbierte und somit systemisch existente Hapten würde mit den möglichen antigenresponsiblen Lymphozyten reagieren und sie inaktivieren oder zerstören. Nur ganz wenige Lymphozyten würden überleben, könnten möglicherweise klonisieren und zu einem späteren Zeitpunkt eine allergische Reaktion bewirken.

Doch schon die Ergebnisse des Versuches, bei dem während der Sensibilisierungsphase DNCB gefüttert wurde (Gruppe VII), lassen sich mit dieser Theorie nicht mehr so einfach erklären. Wenn durch das Füttern die Bildung sensibilisierter Zellen verhindert, bzw. bereits gebildete zerstört würden, so könnte das die Reaktionslosigkeit bei der Testung erklären. Da aber bei Booster 1 bereits 50 % der Tiere wieder allergisch reagierten, mußte trotz weitgehender Zerstörung oder Inaktivierung des Klon eine große Anzahl von Zellen neu gebildet worden sein.

Mit der BURNETschen Theorie nur noch sehr schwer erklärbar ist das Ergebnis des Desensibilisierungsversuches. Alle Tiere (Gruppe VIII) waren sicher sensibilisiert, wie durch die erfolgreiche Testung überprüft wurde. Danach kam die Fütterung, gefolgt von einer weitgehenden Reaktionslosigkeit bei Booster 1. Wenn durch das oral aufgenommene Allergen die antigensensiblen Zellen zerstört oder inaktiviert worden wären, ist es kaum verständlich, daß bei Booster 2 85,7 % der Tiere erneut eine Allergie hatten, also wieder genügend sensibilisierte Zellen zur Verfügung standen.

2.2. Suppressorzelltheorie

Doch auch mit der Suppressorzelltheorie läßt sich ein Teil der Ergebnisse erklären. Sie geht davon aus, daß durch das systemische Hapten die Bildung von Suppressorzellen induziert wird, die eine Reaktion der spezifisch sensibilisierten Lymphozyten mit dem Antigen verhindern.

Die durch DNCB-Füttern vor der Sensibilisierung (Gruppe VI) erzeugte Toleranz ließe sich so interpretieren, daß durch das oral aufgenommene Hapten die Bildung von Suppressorzellen bewirkt würde, die dann die sensibilisierten Lymphozyten an der Reaktion hinderten.

Auch die Ergebnisse der Toleranzerzeugung während der Sensibilisierung (Gruppe VII) lassen sich so erklären. Die spezifischen Suppressorzellen würden bei der Testung jede Reaktion unterdrücken. Doch die erneuten allergisierenden "Reize" von Booster 1 und 2 wären so groß, daß die "Kraft" oder die Zahl der Suppressorzellen nicht ausreichte, um bei allen Tieren eine Reaktion zu unterdrücken.

Die Desensibilisierung wäre ebenfalls mit dieser Theorie zu erläutern. Durch Sensibilisierung und Testung standen dem Körper sehr viele sensibilisierte Zellen zur Verfügung. Das oral applizierte DNCB würde zur Aktivierung von Suppressorzellen führen, die bei Booster 1 auch eine weitgehende Reaktionslosigkeit bewirkten. Ihre Zahl wäre aber zu klein, oder ihre "Kraft" zu gering, um eine Vermehrung der spezifischen Lymphozyten, die durch Booster 2 induziert wurde, zu bewältigen. Als Folge zeigten die Tiere wieder eine allergische Reaktion.

Da die Tiere trotz gleicher Behandlung, nur aufgrund der unterschiedlichen Fütterungszeitpunkte, so verschieden reagierten, legen die Versuchsergebnisse den Schluß nahe, daß es sich bei Toleranz und Desensibilisierung um verschiedenartige Vorgänge im Organismus handelt. Das Problem ist aber eng mit der Beantwortung der Frage verbunden, welche der beiden Toleranztheorien die gültige ist. Daher soll nun mit Hilfe der von anderen Autoren veröffentlichten Ergebnisse die BURNETSche mit der Suppressorzelltheorie verglichen werden.

3. Vergleich der Immuntoleranztheorien

3.1. Das Argument für die BURNETSche Theorie

Allein mit der BURNETSchen Theorie interpretierbar ist die Tatsache der sofortigen Erzeugbarkeit von Toleranz durch eine große i.v. Dosis DNBSO₃ (29, 79). Es ist nicht erklärbar, auf welche Weise solch eine Injektion so rasch zur Bildung bzw. Vermehrung von Suppressorzellen führen soll. Wohl aber ist es vorstellbar, daß durch diese systemische Allergenapplikation alle spezifisch sensibilisierten Zellen zerstört wurden.

3.2. Das Argument für die Suppressorzelltheorie

Toleranz läßt sich mit Zellen des Peritonealexsudates toleranter Tiere auf normale Tiere übertragen (8, 52, 84, 89, 107). Dieses Phänomen wurde von GERSHON als "infectious tolerance" bezeichnet (103). Durch diesen Zelltransfer käme es auch zur Übertragung der Suppressorzellen, die dann beim Empfänger die Ausbildung der allergischen Reaktion verhindern würden.

Ein humoraler Faktor als Träger der Toleranz scheidet aus, da sie durch Serum nicht übertragen werden kann (17).

3.3. Mit beiden Theorien zu erklärende Ergebnisse

Dazu gehört die paradox scheinende Tatsache, daß der gleiche Stoff durch verschiedene Applikationsweisen oder unterschiedliche Dosierungen sowohl Allergie als auch Toleranz auszulösen vermag (57, 77). Intradermale und epikutane Applikation führen bei DNCB in mittleren Dosen zur Allergie, in sehr niedrigen oder sehr hohen jedoch zur Toleranz (60). Dieses Phänomen, das im englischen Schrifttum als "low dose tolerance" bzw. "high dose tolerance" bezeichnet wird, ist mittlerweile für verschiedene Stoffe und Tierarten beschrieben worden (4, 52).

Bei der Erklärung helfen die Untersuchungen MACHERs über das Verhalten von intradermal injiziertem DNCB. Er zeigte, daß der größte Teil des Allergens (bis zu 90 % in der ersten Stunde) auf dem Blutwege abströmt. Der in der Haut verbleibende Rest bewirkt die Sensibilisierung (61, 73). Bei sehr großen Allergenmengen ist der im Blut befindliche (toleranz erzeugende) Teil, gemessen am intradermal verbliebenen (sensibilisierenden) Rest so groß, daß er, sei es durch Zerstörung der Effektorzellen oder Bildung von Suppressorzellen, Toleranz erzeugt. Bei sehr kleinen Mengen ist der in der Haut gebundene Rest so klein, daß der Teil im Blut, obwohl auch sehr klein, zur Toleranz erzeugung ausreicht. Nur bei mittleren Mengen ist das Verhältnis von Haut- und Blutfraktion zugunsten der sensibilisierenden Hautfraktion verschoben.

3.4. Mit keiner der beiden Theorien allein interpretierbare Ergebnisse

Durch eine große i.v. Dosis DNBSO₃ wird sowohl die Kontaktüberempfindlichkeit, als auch die Entwicklung einer parakortikalen Zone im regionalen Lymphknoten verhindert. Kleinere i.v. Dosen unterdrücken zwar die Hautreaktionen, nicht aber die Entwicklung eines Parakortex (79, 80, 81). Nach BURNET wären alle Zellen zerstört worden. Dann ist es aber unverständlich, wie sich bei der kleinen Dosis ein Parakortex bilden konnte, ohne daß es zur kutanen Reaktion kam. Möglich wäre es, daß durch die kleine Dosis die Bildung von Suppressorzellen induziert wurde, die dann die periphere Reaktion unterbanden. Durch diese Suppressorzellen läßt sich jedoch die Tatsache, daß eine große Dosis beides verhindert und vor allem, daß dieser Effekt sofort eintritt, nicht erklären.

Absolut verschieden sind die Interpretationsmöglichkeiten folgender Resultate. Je kleiner die i.v. Dosis DNBSO₃, desto länger muß sie vor der Sensibilisierung gegeben werden (28, 79). Versucht man zu desensibilisieren, dann muß - je kleiner die Dosis ist - die Injektion um so näher am Zeitpunkt der Sensibilisierung liegen (28, 36). Das läßt sich mit keiner der beiden Theorien allein erklären.

Mit der BURNETschen Theorie könnte man sagen, daß nach der Sensibilisierung die kleine Menge DNBSO₃ nur dann eine Chance hat, alle sensibilisierten Zellen zu erreichen, wenn sie möglichst früh appliziert wird. Je mehr Zeit vergeht, desto mehr Zellen entstehen und desto schwieriger würde es werden, sie zu zerstören.

Doch auch die Suppressorzelltheorie bietet eine Erklärung. Je kleiner die vor der Sensibilisierung applizierte Dosis ist, desto geringer wäre der "Wachstumsreiz" für die Suppressorzellen. Es würde also mehr Zeit benötigt, um genügend Suppressorzellen zu bilden bzw. den vorhandenen die Möglichkeit zu geben, mit den Effektorzellen zu reagieren.

Befriedigend sind beide Erklärungen nicht. Daß die kleine Dosis längere Zeit brauchen würde, um alle Zellen zu zerstören, erscheint unwahrscheinlich, da - wie MACHER bewies - systemisches DNCB in wenigen Tagen ausgeschieden wird (61). Ein Allergendepot als Basis einer sukzessiven Zerstörung der Zellen erscheint also ausgeschlossen (9). Dieser Reaktionsteil würde durch die Suppressorzelltheorie besser erklärt. Die sofortige Reaktionslosigkeit nach einer großen Dosis DNCB wird jedoch nur durch die BURNETsche Theorie verständlich gemacht.

4. Schlußbetrachtung

Die Gegenüberstellung all dieser Fakten zeigt, daß Toleranz und Desensibilisierung eventuell auf verschiedene Grundmechanismen zurückgehen können. Doch keine der herangezogenen Theorien bringt - jede für sich allein betrachtet - richtige Klarheit.

Die BURNETsche Theorie fügt sich, basierend auf der klassischen klonalen Selektionstheorie, "nahtlos" in die bisherigen Vorstellungen vom Immunvorgang ein. Leider erklärt sie aber nicht alle Phänomene.

Auf der Suche nach vollständiger Aufklärung kam es zur Theorie der Suppressorzellen (37, 70, 80). Sie führte zu einer neuen Vorstellung vom "normalen" Immunvorgang, wie in Kapitel E schon geschildert. Doch auch sie kann nicht alle auftretenden Fragen beantworten.

Obwohl die Theorien von absolut konträren Grundvorstellungen ausgehen (BURNETSche: Zellzerstörung, also "passiv"; Suppression: Suppressorzellbildung, also "aktiv"), überschneiden sie sich jedoch vielfach. Keine der beiden kann aber ganz falsch sein, da es für jede von ihnen Beweise gibt. Eine Synthese beider Theorien wäre möglicherweise in der Lage, eine vollständige Erklärung zu liefern.

Systemisch appliziertes Hapten hat sowohl einen zellzerstörenden bzw. inaktivierenden, als auch einen suppressorzellbildenden Effekt. Eine große i.v. Dosis DNBSO₃ führt sofort zur Zerstörung aller responsiblen Zellen. Eine kleinere Dosis zerstört zwar nur einen Teil, aber die gleichfalls gebildeten Suppressorzellen unterdrücken die Reaktion der noch verbliebenen Effektorzellen. Das wäre der Fall bei der Gruppe VI.

Wird das Hapten während der Sensibilisierungsphase oral appliziert, so kommt es wiederum zur Zerstörung der Zellen. Ein Teil kann allerdings noch klonisieren. Beim Testen verhindern jedoch die ebenfalls gebildeten Suppressorzellen die Immunreaktion. Kommt es aber beim "Boostern" zu einem erneuten starken Antigenreiz, so ist die Potenz des spezifischen Klon zu groß, um noch von den Suppressorzellen beherrscht zu werden. Eine Immunreaktion ist die Folge. Diese Vorgänge würden den bei der Gruppe VII beobachteten entsprechen.

Ähnliches gilt für die Desensibilisierung, wie sie bei der Gruppe VIII durchgeführt wurde. Das systemische Hapten zerstört einen Teil der sensibilisierten Zellen. Da nach der Klonisierung aber bereits sehr viele responsible Zellen vorhanden sind, ist die zerstörende Wirkung nicht besonders groß. Gemeinsam mit den gleichzeitig gebildeten Suppressorzellen kann aber bei Booster 1 die Immunreaktion zu einem großen Teil noch verhindert werden. Doch der "Reiz" von Booster 2 und 3 bewirkt bei den ohnehin schon zahlreichen Zellen eine solche Vermehrung, daß die Suppressoraktivität bei weitem nicht mehr ausreicht, um die Immunreaktion zu verhindern.

5. Schlußfolgerung

Eine Synthese der BURNETschen und der Suppressorzelltheorie ist in der Lage, eine weitgehend vollständige Erklärung des Phänomens Immuntoleranz zu liefern. Geht man von diesem Postulat aus, dann ist das Ergebnis der vorliegenden Arbeit folgende Schlußfolgerung:

Toleranz und Desensibilisierung stellen keine unterschiedlichen Reaktionsformen des Organismus dar, sondern ihre Verschiedenartigkeit ist Ausdruck eines Ungleichgewichtes zwischen einem Allergie erzeugenden (Wachstumspotential eines spezifischen Klons) und einem Allergie verhindernden System (Zellzerstörung und Suppression).

Der "Toleranzreiz", der vor dem "Sensibilisierungsreiz" den Organismus beeinflußt, ist am wirkungsvollsten (Gruppe VI).

Der "Toleranzreiz", der zugleich mit dem "Sensibilisierungsreiz" auf den Organismus trifft, hat diese Kraft nur kurzfristig. Das Allergie erzeugende System gewinnt bald wieder die Oberhand (Gruppe VII).

Der "Toleranzreiz", der jedoch erst nach dem "Sensibilisierungsreiz" mit dem Organismus in Berührung kommt, ist von Anfang an nicht stark genug, um das Allergie erzeugende System völlig zu unterdrücken, weshalb dieses auch nach kurzer Zeit wieder weitgehend dominiert (Gruppe VIII).

Damit wäre eine Verbindung sowohl zwischen den verschiedenen Toleranztheorien, als auch zwischen den Entstehungsmechanismen von Toleranz und Desensibilisierung hergestellt.

L. Zusammenfassung

Es wurde unter standardisierten Bedingungen versucht, durch orale Applikation von 0,6 g DNCB (im Futter) Toleranz (Nichtreagieren des Organismus auf ein Antigen) und Desensibilisierung (Toleranz-erzeugung in einem bereits sensibilisierten Organismus) beim DNCB-Kontaktekzem des Meerschweinchens hervorzurufen.

Das epikutane Sensibilisieren der Tiere geschah mit 0,08 ml einer 0,5 % DNCB-Salbe. Das Auslösen der Allergie erfolgte mit 0,08 ml einer 0,1 % DNCB-Salbe. Jede Gruppe bestand aus 10 Tieren.

Gruppe VI (Füttern, Sensibilisieren, Testen, Booster 1 und 2) zeigte Toleranz, die auch nach 64 und 99 Tagen nur bei 2 von 10 Tieren durchbrochen werden konnte.

Gruppe VII (Sensibilisieren/Füttern, Testen, Booster 1 und 2) zeigte bei der Testung ebenfalls Toleranz, die aber schon nach 49 Tagen (Booster 1) bei 50 % der Tiere durchbrechbar war. Am 84. Tag bestätigte Booster 2 dieses Resultat.

Gruppe VIII (Sensibilisieren, Testen, Füttern, Booster 1, 2 und 3) war zwar bei Booster 1 weitgehend desensibilisiert (87,5 %), doch schon nach 64 Tagen (Booster 2) reagierten 85,7 % der Tiere wieder allergisch. Booster 3 brachte nach weiteren 32 Tagen das gleiche Ergebnis.

Drei Fragen stellen sich im Zusammenhang mit den Versuchsergebnissen.

- 1) Wie können die erzielten Ergebnisse im Lichte der heute meistdiskutierten Theorien (BURNETsche und Suppressorzelltheorie) erklärt werden?
- 2) Welche Fakten sprechen für die BURNETsche Theorie, die davon ausgeht, daß spezifisch sensibilisierte Zellen durch im Blut befindliches Hapten zerstört oder inaktiviert werden können? Welche Argumente unterstützen die Suppressorzelltheorie, die darauf basiert, daß es auch im toleranten Organismus sensibilisierte Zellen gibt, diese aber durch spezifische andere Zellen an der Reaktion mit dem Antigen gehindert werden?
- 3) Sind Toleranz und Desensibilisierung gleich- oder verschiedenartige Reaktionen des Körpers?

Da Toleranzerzeugung vor und während der Sensibilisierung ebenso wie die Desensibilisierung weder mit der BURNETschen noch mit der Suppressorzelltheorie allein erklärbar ist, wurden beide Theorien aufgrund der Ergebnisse anderer Autoren miteinander verglichen.

Dabei zeigte es sich, daß die sofortige Erzeugbarkeit von Toleranz für die BURNETsche, ihre Übertragbarkeit auf andere Tiere für die Suppressorzelltheorie spricht. Es gibt aber auch Befunde, die sowohl mit beiden, als auch mit keiner der beiden allein interpretierbar sind.

Das führte zu folgenden Schlußfolgerungen.

Eine Synthese der BURNETschen und der Suppressorzelltheorie ist in der Lage, eine weitgehend vollständige Erklärung des Phänomens Immuntoleranz zu liefern. Geht man von diesem Postulat aus, dann stellen Toleranz und Desensibilisierung keine unterschiedlichen Reaktionsformen des Organismus dar. Ihre Verschiedenheit ist vielmehr der Ausdruck eines Ungleichgewichtes zwischen einem Allergie erzeugenden (Wachstumspotential eines spezifischen Klon) und einem Allergie verhindernden System (Zellzerstörung und Suppression).

Damit wäre eine Verbindung sowohl zwischen den verschiedenen Toleranztheorien, als auch zwischen den Entstehungsmechanismen von Toleranz und Desensibilisierung hergestellt.

M. Literaturverzeichnis

1. ARTHUS, M.: Injections répétées de sérum de cheval chez le lapin. C.R.Soc.Biol. (Paris) 55,817 (1903)
2. ASHERSON, G. L.; ZEMBALA, M. and BARNES, R. M. R.: The role of blocking factors (antibodies) in immunological tolerance to tissue antigens.
In: NISBET and ELVES: Immunological tolerance to tissue antigens, p. 189 Orthopaedic Hospital, Oswestry (1971)
3. BAER, R. L.: Allergic eczematous sensitization in man 1936 and 1964. J.invest.Derm. 43,223 (1964)
4. BAKER, P. J.: Homeostatic control of antibody responses: A model based on the recognition of cell-associated antibody by regulatory T cells.
In: Transplantation Reviews, Volume 26, p. 3, Editor: MÖLLER, G., Munksgaard Copenhagen (1975)
5. BANDMANN, H. J.: Über das Vorkommen von Monocyten in den entzündlichen Infiltraten des experimentellen Kontaktekzems. Zschr.Haut-Geschl.-Krk. 42,495 (1967)
6. BANDMANN, H. J.: Das histopathologische Bild der kontaktallergischen und alkalitoxischen Ekzeme.
Ther. Umschau 27,488 (1970)
7. BANDMANN, H. J.; BREIT, R. und LEUTGEB, Chr.: Kontaktallergie und Dermatitis atopica. Arch.derm.Forsch. 244,332 (1972)
8. BASTEN, A.; MILLER, J. F. A. P. and JOHNSON, P.: T cell-dependent suppression of an anti-hapten antibody response.
In: Transplantation Reviews, Volume 26, p. 130, Editor: MÖLLER, G., Munksgaard Copenhagen (1975)
9. BATTISTO, J. R. and CHASE, M. W.: Immunological unresponsiveness to sensitization with simple chemical compounds.
J.exp.Med. 118,1021 (1963)
10. BORELLI, S.: Allergologie aus dermatologischer Sicht
Mkurse ärztl. Fortbild. 21,301 (1971)
11. BRAUN-FALCO, O. und BURG, G.: Histochemische und cytochemische Untersuchungen bei der allergischen DNCB-Kontaktdermatitis des Meerschweinchens.
Arch.klin.exp.Derm. 239,307 (1970)

12. BRAUN-FALCO, O. und WOLFF, H. H.: Zur Ultrastruktur der menschlichen Epidermis bei der allergischen Epicutantestreaktion, Arch.derm.Forsch. 240,23 (1971)
13. BRETSCHER, P. and COHN, M.: A theory of selfnonself discrimination. Science 169,1042 (1970)
14. BURG, G. und BRAUN-FALCO, O.: 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB)-Salbe zur Sensibilisierung, Testung und Behandlung von Patienten mit malignem Melanom. Dtsch.med.Wschr 102,210 (1977)
15. BURNET, F. M.: The clonal selection theory of acquired immunity. Cambridge Univ. Press, London & New York (1959)
16. CHASE, M. W.: Inhibition of experimental drug allergy by prior feeding of the sensitizing agent. Proc.Soc.exp.Biol.Med. 61,257 (1946)
17. CHASE, M. W.: Tolerance towards chemical allergens. In: Tolérance acquise et tolérance naturelle à l'égard de substances entigéniques définies. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, p.138 (1963)
18. COE, J. E. and SALVIN, S. B.: The specificity of allergic reactions. VI. Unresponsiveness to simple chemicals. J.exp.Med. 117,401 (1963)
19. FILIPP, G.: Pathogenese und Therapie allergischer Reaktionen. Grundlagenforschung und Klinik, XVI,377, Ferdinand Enke, Stuttgart (1966)
20. FISCHER, R.: Allgemeine Immunologie und Immunpathologie, S.175. In: EDER, M. und GEDIGK, P.: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (1974)
21. FREI, W.: Über willkürliche Sensibilisierung gegen chemisch definierte Substanzen. I. Untersuchungen mit Neosalvarsan am Menschen. Klin. Wschr. 7,539 (1928)
22. FREI, W.: Über willkürliche Sensibilisierung gegen chemisch-definierte Substanzen. II. Untersuchungen mit Neosalvarsan am Tier. Klin.Wschr. 7,1026 (1928)
23. FREY, J. R. und WENK, P.: Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese des Kontaktekzems. Dermatologica (Basel) 112,265 (1956)

24. FREY, J. R. and WENK P.: Experimental studies on the pathogenesis of contact eczema in the guinea-pig.
Int.Arch.Allergy 11,81 (1957)
25. FREY, J. R. and WENK, P.: Über die Funktion der regionalen Lymphknoten bei der Entstehung des Dinitrochlorbenzol-Kontaktekzems am Meerschweinchen.
Dermatologica (Basel) 116,243 (1958)
26. FREY, J. R. und WENK, P.: Über die Beeinflussung des Dinitrochlorbenzol-Kontaktekzems des Meerschweinchens durch Infektion mit Bazillus Calmette-Guérin.
Dermatologica (Basel) 117,154 (1958)
27. FREY, J. R. und GELEICK, H.: Intranodale (intralymphatische) Injektion von Dinitrochlorbenzol und Kontaktekzem des Meerschweinchens. Dermatologica (Basel) 124,321 (1962)
28. FREY, J. R. und GELEICK, H.: Desensibilisierung durch intravenöse Injektion von Dinitrochlorbenzol beim Kontaktekzem des Meerschweinchens. Dermatologica (Basel) 125,132 (1962)
29. FREY, J. R.; de WECK, A. L. and GELEICK, H.: Immunological unresponsiveness in allergic contact dermatitis to dinitrochlorobenzene in guinea pigs.
J.invest.Derm. 42,41 (1964)
30. FREY, J. R.; de WECK, A. L. and GELEICK H.: Inhibition of the contact reaction to dinitrochlorobenzene by intravenous injection of dinitrobenzene sulfonate in guinea pigs sensitized to dinitrochlorobenzene. J.invest.Derm. 42,189 (1964)
31. FREY, J. R.; GELEICK, H.; de WECK, A. L.: Immunological tolerance induced in animals previously sensitized to simple chemical compounds. Science 144,1620 (1964)
32. FREY, J. R.; de WECK, A. L. and GELEICK, H.: Course and duration of hypersensitivity and immunological tolerance to simple chemical compounds in guinea pigs, p.370.
International symposium on immunological tolerance.
Locarno, May (1965)
33. FREY, J. R. und POLAK, L.: Das allergische Kontaktekzem.
Immunbiologische Grundlagen. Ther.Umschau 27,479 (1970)
34. FREY, J. R.; de WECK, A. L.; GELEICK, H. and POLAK, L.: Immunological tolerance in contact-hypersensitivity to dinitrochlorobenzene. Dose and time dependence.
Possible cellular kinetics. Immunology 21,483 (1971)

35. FREY, J. R.; de WECK, A. L. and GELEICK, H.: Studies on the induction of immunological tolerance by antigen in guinea-pigs already sensitized to dinitrochlorobenzene. Clin.exp.Immunol. 8,131 (1971)
36. FREY, J. R.; de WECK, A. L.; GELEICK, H. and POLAK, L.: The induction of immunological tolerance during the primary response. Int.Arch.Allergy 42,278 (1972)
37. GELEICK, H. und POLAK, L.: Beitrag zum Mechanismus der Toleranz beim experimentellen allergischen DNCB-Kontakt-Ekzem des Meerschweinchens. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel (1974)
38. GERSHON, R. K.: A disquisition on suppressor T cells. In: Transplantation Reviews, Volume 26, p. 170, Editor: MÖLLER, G., Munksgaard Copenhagen (1975)
39. GILLISSEN, G. und BREINING, H.: Untersuchungen über den Mechanismus der allergischen Spätreaktion. VII. Die funktionelle Beziehung zwischen LNPF (lymph node permeability factor) und Histonen. Ärztl.Forsch. 23,263 (1969)
40. de GRACIANSKY, P.; ISRAEL, L. und COHEN-SOLAL, J.: Beitrag zum Studium des Einflusses des Zentralnervensystems auf das experimentelle Dinitrochlorbenzol-Ekzem des Meerschweinchens. Hautarzt 10,294 (1959)
41. HALLIDAY, W. J. and WALTERS, B. A. J.: The mechanism of tolerance in contact hypersensitivity to dinitrochlorobenzene in guinea-pigs. Clin.exp.Immunol. 16,203 (1974)
42. HOIGNE, R.: The pathogenesis of allergic inflammation. Int.Z.klin.Pharm. 5,171 (1971)
43. HOLZNER, J. H.: Allgemeine Immunologie und Pathologie der Immunreaktionen, S. 133. In: HOLZNER, J. H.: Pathologie des Menschen. Allgemeine Pathologie. Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien (1973)
44. HUNZIKER, N.: De l'eczéma expérimental. XI. A propos de la "désensibilisation locale" dans l'eczéma au dinitrochlorobenzène du cobaye. Dermatologica (Basel) 122,194 (1961)
45. KABAT, E. A.: Einführung in die Immunchemie und Immunologie, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (1971)
46. KATZ, D. H.: Interactions between T and B lymphocytes in immune responses. J.invest.Derm. 65,347 (1975)

47. KEINING, E. und BRAUN-FALCO, O.: Dermatologie und Venerologie.
J. F. Lehmanns Verlag, München (1969)
48. KLASCHKA, F.: Experimentelle Untersuchungen zum Antigen-Pro-
blem des 2,4-Dinitrochlorbenzol-Ekzems.
Zschr.Haut-Geschl.-Krk. 42,487 (1967)
49. KLASCHKA, F.: Tierexperimentelle Studien zum Kontaktekzem.
V. Sensibilisierung und Desensibilisierung mit Epidermis-
2,4-Dinitrochlorbenzol-Konjugaten.
Arch.klin.exp.Derm. 233,329 (1968)
50. KNOTH, W.; SIEDOW, K.; FLEISCHER, E.; HEINTEL-TRÜSTER, U.:
Zur Epicutanprobe mit einem neuartigen Testpflaster.
Zschr. Haut-Geschl.-Krk. 43,711 (1968)
51. KOCH, R.: Fortsetzung der Mitteilungen über ein Heilmittel
gegen Tuberkulose. Dtsch.med.Wschr. 3,101 (1891)
52. KÖLSCH, E.; STUMPF, R. and WEBER, G.: Low zone tolerance and
suppressor T cells. In: Transplantation Reviews, Volume 26,
p.56, Editor: MÖLLER, G., Munksgaard Copenhagen (1975)
53. LANDSTEINER, K. and JAKOBS, J.: Studies on the sensitization
of animals with simple chemical compounds.
J.exp.Med. 61,643 (1935)
54. LANDSTEINER, K. and CHASE, M. W.: Experiments on transfer of
cutaneous sensitivity to simple compounds.
Proc.Soc.Exp.Biol. 49,688 (1942)
55. LEIBIGER, R.: Das Verhalten der azurgranulierten Lymphozyten
von Meerschweinchen bei toxischer Dermatitis, bei allergischem
DNCB-Kontaktekzem und bei peroraler Desensibilisierung der
Tiere mit DNCB. Inauguraldissertation, Uni München (1977)
56. LOWNEY, E. D.: Immunologic unresponsiveness to a contact
sensitizer in man. I.invest.Derm. 51,411 (1968)
57. LOWNEY, E. E.: Dermatologic implications of immunological
unresponsiveness. I.invest.Derm. 54,355 (1970)
58. LOWNEY, E. D.: Tolerance of dinitrochlorobenzene, a contact
sensitizer, in man. J.Allergy 48,28 (1971)
59. LOWNEY, E. D.: Suppression of contact sensitization in man
by prior feeding of antigen. I.invest.Derm. 61,90 (1973)

60. MACHER, E. and CHASE, M. W.: Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds. XII The influence of excision of allergenic depots in onset of delayed hypersensitivity and tolerance. *J.exp.Med.* 129,103 (1968)
61. MACHER, E.: Allergisches Kontaktekzem und Immuntoleranz. Experimentelle Befunde und klinische Implikationen. *Hautarzt* 20,145 (1969)
62. MACHER, E.: Immunologische Mechanismen der Allergie. *Z.Haut-Geschl.-Kr.* 47,307 (1972)
63. MAGUIRE, H. C. and ETTÖRE, V. L.: Enhancement of dinitrochlorobenzene (DNCB) contact sensitization by cyclophosphamide in the guinea pig. *J.invest.Derm.* 48,39 (1967)
64. MARGHESCU, S.: Autoaggressionskrankheiten der Haut. *Wien.med.Wschr.* 120,779 (1970)
65. MARGHESCU, S.: Grundlagen der Immunbiologie. *Fortschr.prakt.Derm.Vener.* 6,245 (1970)
66. MARGHESCU, S.: Die Behandlung der akuten allergischen Kontaktdermatitis. *Dtsch.med.Wschr.* 96,756 (1971)
67. MARGHESCU, S. und WOLFF, H. H.: Untersuchungsverfahren in Dermatologie und Venerologie. *J.F.Bergmann-Verlag, München* (1975)
68. MEDENICA, M. and ROSTENBERG, A.: A comparative light and electron microscopic study of primary irritant contact dermatitis and allergic contact dermatitis. *J.invest.Derm.* 56,259 (1971)
69. METZ, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an allergischen und toxischen Epicutantestreaktionen des Menschen. *Arch.derm.Forsch.* 245,125 (1972)
70. MÜLLER, G.: Suppressor T lymphocytes. *Transplantation Reviews, Volume 26, Munksgaard Copenhagen* (1975)
71. NACHTIGAL, D.; ZAN-BAR, I. and FELDMAN, M.: The role of specific suppressor T cells in immune tolerance. In: *Transplantation Reviews, Volume 26,p.87, Editor: MÜLLER, G., Munksgaard Copenhagen* (1975)
72. NAJARIAN, J. S.; FELDMAN, J. D.: Passive transfer of contact sensitivity by tritiated thymidine-labelled lymphoid cells. *J.exp.Med.* 117,775 (1963)

73. NAKAGAWA, S.; UEKI, H. and TANIOKU, K.: The distribution of 2,4-dinitrophenyl groups in guinea pig skin following surface application of 2,4-dinitrochlorobenzene: An immunofluorescent study. *J.invest.Derm.* 57,269 (1971)
74. NASEMANN, Th.; SAUERBREY, W.: *Lehrbuch der Hautkrankheiten und venerischen Infektionen.*
Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (1974)
75. NISHIOKA, K.; AOKI, T. and TASHIRO, M.: Studies on carrier substances of DNCB contact allergy.
Dermatologica (Basel) 142,232 (1971)
76. PAROTT, D. M. V.; de SOUSSA, M. A. B. and EAST, J.: Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice. *J.exp.Med.* 123,191 (1966)
77. v. PIRQUET, C.: *Allergie.* *Munch.med.Wschr.* 53,1457 (1906)
78. POLAK, L. and TURK, J. L.: Studies on the effect of systemic administration of sensitizers in guinea-pigs with contact sensitivity to inorganic metal compounds.
I. The induction of immunological unresponsiveness in already sensitized animals
Clin.exp.Immunol. 3,245 (1968)
79. POLAK, L. and FREY J. R.: Tolerance and desensitization in experimental eczema. *Curr. Probl. Derm.* vol. 4,p.146 (1972)
80. POLAK, L.; FREY, J. R. and TURK, J. L.: Dissociation between lymph node and peripheral reactivity in immunological unresponsiveness to DNCB. *Immunology* 25,451 (1973)
81. POLAK, L.; FREY, J. R. and TURK, J. L.: A contribution to the mechanism of induction of tolerance to DNCB in guinea pigs. *Int.Arch. Allergy* 45,258 (1973)
82. POLAK, L. and TURK, J. L.: Reversal of immunological tolerance by cyclophosphamide through inhibition of suppressor cell activity. *Nature* 249,654 (1974)
83. POLAK, L. and MACHER, E.: In vitro sensitization to dinitrochlorobenzene in guinea pigs. *Nature* 252,5485 (1974)
84. POLAK, L.; GELEICK, H. and FREY, J. R.: The cellular mechanism of tolerance and desensitization in contact hypersensitivity to DNCB in Guinea pigs. *Monogr.Allergy* 8,168 (1974)
85. POLAK, L. and CHILLER, J. M.: Unresponsiveness to proteins, polysaccharides and haptens. *Progr. in Immunology* 3,376 (1974)

86. POLAK, L.: Suppressor cells in different types of unresponsiveness to DNCB contact sensitivity in guinea-pigs.
Cin.exp.Immunol. 19,543 (1975)
87. POLAK, L.; RYDEN, A. and ROELANTS, G. E.: Antigenbinding T and B lymphocytes in sensitization and unresponsiveness to dinitrochlorobenzene (DNCB) contact sensitivity.
Immunology 28,479 (1975)
88. POLAK, L. and GELEICK, H.: Differing mechanisms of tolerance and desensitization to dinitrochlorobenzene in guinea pigs.
Eur.J.Immunol. 5,94 (1975)
89. POLAK, L.: The transfer of tolerance to DNCB-contact sensitivity in guinea pigs by parabiosis.
Journal of Immunology 114,988 (1975)
90. POLAK, L.: Persönliche Information (1975)
91. POMERANZ, J. R.: Studies on the evolution of immunologic unresponsiveness following hapten feeding.
J.invest.Derm. 56,441 (1971)
92. PORTIER, P. et RICHET, C.: De l'action anaphylactique de certains vénins. C.R.Soc.Biol. (Paris) 54,70 (1902)
93. REMOLD, H. G.; WORD, P. and DAVID, J. R.: Characterization of migration inhibitory factor (MIF) and its separation from a chemotactic factor for monocytes. Int. Arch.Allergy 41,16 (1971)
94. SCHLESINGER, M.: Antigens of the thymus. In: Progress in allergy, Volume 16,p.270, Editors: KALLOS, P.; WAKSMAN, B. H. and de WECK, A., S.Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sidney (1972)
95. SCHRÖPL, F.: Allergie, Diagnose = Therapie
In: Bild der Wissenschaft, 6,656 (1973)
96. SCHULZE, W.: Zum Mechanismus der epikutanen Sensibilisierung. Allergie und Asthma 3,299 (1957)
97. SKOG, E.: The effects of pretreatment with an allergen in active and passive sensitization. Experiments on guinea-pigs with 2,4-dinitrochlorobenzene. Acta dermat.venerol. (Stockh.) 41,135 (1961)
98. SPIER, H. W.: Neuere Vorstellungen zur Pathogenese der allergischen Kontaktdermatitis. Fortschr. prakt.Derm.Vener. 6,65 (1970)
99. SPIESS, H.: Impfkompodium. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1973)

100. STEFFEN, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1968)
101. STORCK, H.: Das experimentelle Ekzem. Handbuch d.Haut-u. Geschl.-Kr., Ergänzungswerk II/1, 113 (1962)
102. SULZBERGER, M. B.: Hypersensitiveness to arsphenamine in guinea-pigs. I. Experiments in prevention and in desensitization. Arch.Dermatol.Syphilol. 20,669 (1929)
103. TADA, T.; TANIGUCHI, M. and TAKEMORI, T.: Properties of primed suppressor T cells and their products. In: Transplantation Reviews, Volume 26,p.106, Editor: MÖLLER, G., Munksgaard Copenhagen (1975)
104. THIES, W.; SCHWARZ, E. und PALME, G.: Zur Pathogenese des Kontaktekzems. I. Autoradiographische Verteilungsstudien beim Meerschweinchen nach epicutaner Applikation von ³H-Dinitrochlorbenzol. Arch.klin.exp.Derm. 223,558 (1965).
105. VOISIN, G. Y.: Immunological facilitation, a broadening of the concept of the enhancement phenomenon. In: Progress in allergy, Volume 15,p.328, Editors: KALLOS, P.; WAKSMAN, B. H. and de WECK, A., S. Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sidney (1972)
106. de WECK, A. L.; FREY, J. R. and GELEICK, H.: Specific inhibition of contact dermatitis to dinitrochlorobenzene in guinea pigs by injection of haptens and protein conjugates. Int.Arch.Allergy 24,63 (1964)
107. WEIGLE, W. O.; SIECKMANN, D. G.; DOYLE, M. V. and CHILLERY, M.: Possible roles of suppressor cells in immunological tolerance. In: Transplantation Reviews, Volume 26,p.186, Editor: MÖLLER, G., Munksgaard, Copenhagen (1975)
108. de WIT, R. F. E. and BLEUMINK, E.: Suppression of contact hypersensitivity to DNCB by previous intravenous injection of DNP-protein conjugate. Dermatologica (Basel) 141,38 (1970)
109. ZINSSER, H.: Studies on the tuberculin reaction and on specific hypersensitiveness in bacterial infection. J.exp.Med. 34,495 (1921)

An dieser Stelle möchte ich mich recht herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Sándor Marghescu für die Überlassung des Themas und die wertvolle Unterstützung bei der Erstellung der Dissertation bedanken.

Ferner gilt mein Dank dem wissenschaftlich-technischen Personal der Dermatologischen Universitätsklinik München, da durch die freundliche und angenehme Atmosphäre das Arbeiten sehr erleichtert wurde.

Frau Dr. phil. Antonia Dillmann danke ich für die Durchsicht des Manuskriptes und Frau Ingrid Held für dessen Reinschrift.

L e b e n s l a u f

Am 28. Juni 1950 wurde ich, Michael-Werner Kleine, in Halle (Saale) als Sohn des Komponisten und Schriftstellers Dr. phil. Werner Kleine und seiner Ehefrau Diplom-Volkswirt Dr. rer. pol. Annelise Kleine-Helbig geboren.

Während meiner Schulzeit besuchte ich das mathematisch naturwissenschaftliche Gymnasium. Im Juni 1971 legte ich an der staatlichen Schule des Landschulheims Ising am Chiemsee das Abitur ab.

Seit dem Wintersemester 1971/72 studiere ich Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

1972 machte ich das Vorphysikum, 1973 das Physikum, 1974 den ersten, 1976 den zweiten und 1977 den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung nach A0.

Dissertationsdruck
GmbH & Co. KG.

M. SCHADEL

86 Bamberg · Hohe-Kreuz-Str. 9b · Tel. 0951/5 44 14